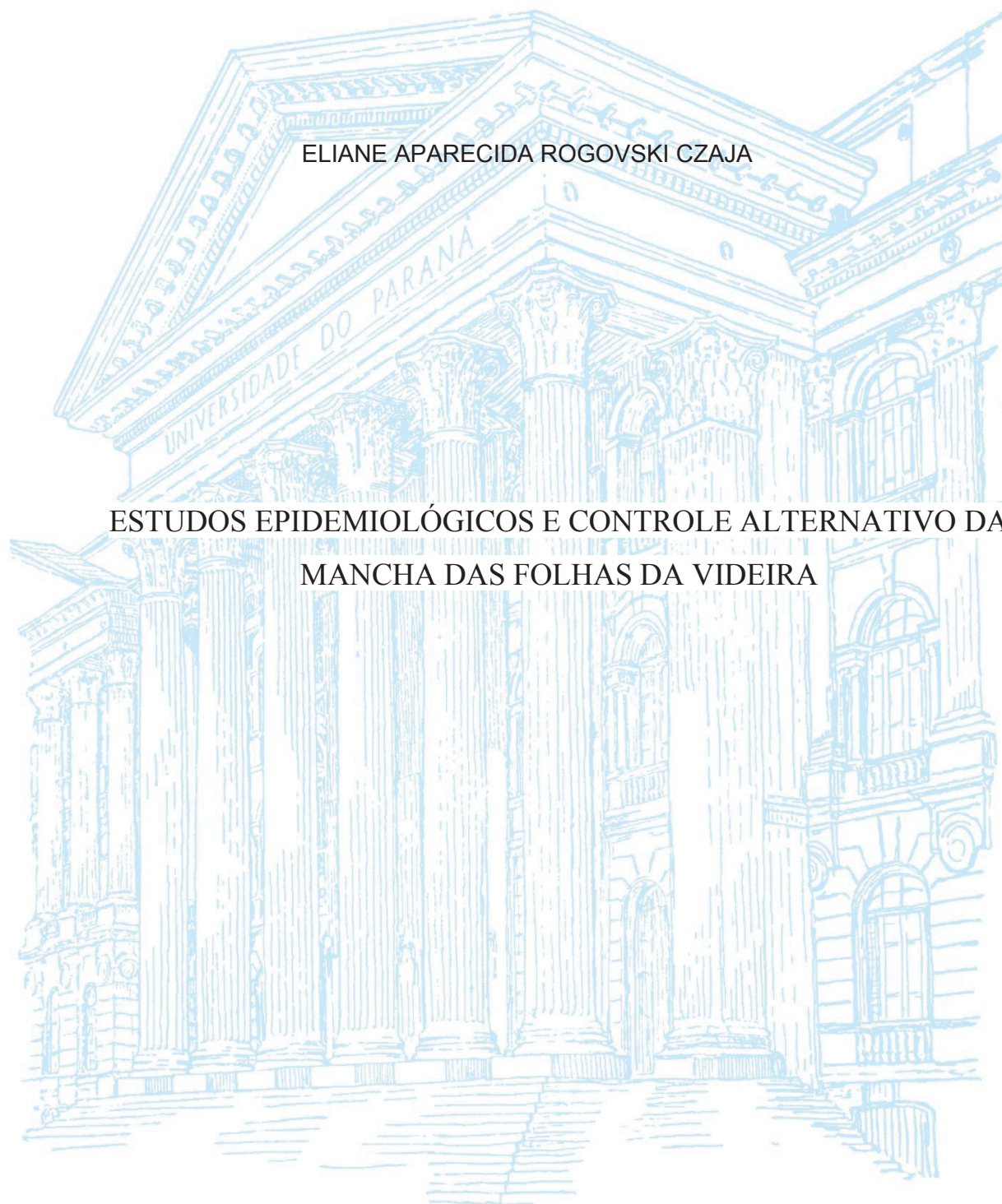


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELIANE APARECIDA ROGOVSKI CZAJA

ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E CONTROLE ALTERNATIVO DA
MANCHA DAS FOLHAS DA VIDEIRA



CURITIBA

2019

ELIANE APARECIDA ROGOVSKI CZAJA

ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E CONTROLE ALTERNATIVO DA MANCHA DAS
FOLHAS DE Videira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como
parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

ORIENTADORA: Dr^a. Louise Larissa May De Mio

CO-ORIENTADORES: Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte
Dr. Cristiano Nunes Nesi

CURITIBA

2019

C998e Czaja, Eliane Aparecida Rogovski
Estudos epidemiológicos e controle alternativo da mancha das
folhas da videira / Eliane Aparecida Rogovski Czaja. - Curitiba,
2019.
93 f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
(Produção Vegetal).

Orientadora: Louise Larissa May De Mio

Coorientador: Henrique da Silva Silveira Duarte

Coorientador: Cristiano Nunes Nesi

1. Estudos epidemiológicos. 2. Fungos. 3. Videira - Cultivo. I.
May De Mio, Louise Larissa (Orientadora). II. Duarte, Henrique da
Silva Silveira (Coorientador). III. Nesi, Cristiano Nunes
(Coorientador). IV. Título. V. Universidade Federal do Paraná.

CDU 634.8



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ELIANE APARECIDA ROGOVSKI CZAJA** intitulada: **ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E CONTROLE ALTERNATIVO DA MANCHA DAS FOLHAS DA VIDEIRA**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 25 de Junho de 2019.

LOUISE LARISSA MAY-DE-MIO

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

HELOISA THOMAZI KLEINA

Avaliador Externo (UFPR)

HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE

Coorientador - Avaliador Interno (UFPR)

CRISTIANO NUNES NESI

Avaliador Externo (EPAGRI)

A Deus, só tenho a agradecer!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar ao meu lado sempre, me guiando e cuidando de cada detalhe, me animando e ajudando a seguir em frente, na decisão em cada passo da minha vida e por mais está maravilhosa conquista.

Aos meus pais João (*in memoria* – saudades eternas) e Maria Rogovski que apesar das dificuldades, nunca deixaram de me incentivar e apoiar nas minhas decisões, zelando sempre pela minha educação.

Ao meu marido, amigo e companheiro Marcio Czaja, por me apoiar nesta jornada, pela paciência e compreensão durante todas as etapas do doutorado.

As minhas irmãs Inês (*in memória* - saudades eternas) e Sandra, que desde sempre me apoiaram, me incentivaram e estiveram ao meu lado. A Sandra que me ajudou nas coletas de campo, meu muito obrigada.

A Universidade Federal do Paraná e ao programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade da realização do curso.

A Professora e orientadora Dra. Louise Larissa May De Mio, pela confiança, paciência, compreensão e amizade. Agradeço o empenho e tempo, dedicados à minha formação. Obrigada por sempre me incentivar, dar conselhos, me corrigir para crescer como profissional. Espero um dia retribuir a dedicação de parte do valioso tempo de sua vida em meu favor.

Ao Professor co-orientador Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte, por sugestões e apoio no decorrer deste trabalho.

Ao professor Dr. Cristiano Nunes Nesi, que também me co-orientou, agradeço sua valiosa ajuda nas análises estatísticas e a sua amizade.

Aos professores do programa de pós-graduação pelos ensinamentos nas disciplinas cursadas.

Aos meus amigos que se fizeram presentes no dia-a-dia no doutorado, doando um pouco do seu tempo e do seu conhecimento, pela parceria, pelo apoio e amizade sincera desde o início deste trabalho.

Aos estagiários Felipe Eugenio Jauch e Luis Guilherme Rover Virmond, pela colaboração em parte deste trabalho e a todos do Laboratório de Epidemiologia para Manejo Integrado de Doenças (LEMID), que de alguma forma fizeram parte desta conquista.

Aos funcionários do departamento de Fitopatologia e Fitossanitarismo em especial Cléia, Lucimara, Maria Emília, Tiago, Simone, Isabel e Eunice pela prestação de serviços e amizade.

Aos professores membros da banca examinadora de defesa: Dr. Henrique Duarte da Silva Silveira, Dr. Cristiano Nunes Nesi e Dra. Heloísa Thomazi Kleina, por terem aceitado o convite e pelas valiosas contribuições realizadas nesse trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, serei sempre grata!

RESUMO

A mancha das folhas da videira (MFV) é causada pelo fungo *Pseudocercospora vitis*, doença importante em vinhedos de cultivares de *Vitis labrusca* e seus híbridos. Não há relatos na literatura que especifiquem as condições que favorecem a infecção deste patógeno e se esta doença apresenta diferença nos níveis de severidade nas diversas cultivares de videiras. A MFV causa desfolha antecipada da videira e o controle da doença é realizado geralmente pelo uso da calda bordalesa. Na primeira etapa deste estudo foram definidas as condições favoráveis para germinação, tamanho de tubo germinativo e crescimento micelial de *P. vitis* e estudou-se a suscetibilidade de cultivares de *V. labrusca* e híbridas a doença. Na segunda etapa foi avaliada a eficácia de utilização de novos produtos para o controle da doença em campo com alta pressão de inóculo. Em câmara de crescimento, foi quantificada a severidade da MFV em dez diferentes cultivares de videira ('Bordô'; 'Concord'; 'Isabel'; 'Isabel precoce'; 'Niagara rosada'; 'BRS Carmem'; 'BRS Cora'; 'BRS Magna'; 'BRS Violeta'; 'BRS Vitória'). Na fase de campo, avaliou-se a severidade da MFV ao longo do tempo nas safras 2016/2017 e 2017/2018, verificando a eficácia de controle da doença pelos tratamentos: testemunha (sem aplicação); aplicação de água; acetato de eugenila (0,1%) acrescido ou não de bicarbonato de potássio; calda bordalesa (0,3%); Serenade® (0,2%) aplicado isoladamente ou acrescido de melado de cana à 1 e à 2% e produto tecnológico PTCV. A temperatura ótima para a germinação de conídios de *P. vitis* foi de 28 °C e para o crescimento do tubo germinativo a temperatura ideal foi de 27 °C. Para peso micelial a temperatura ótima foi 26,4 °C. A maior germinação do patógeno ocorreu com molhamento de 45,5 horas e temperatura de 29,6 °C. O período de incubação nas cultivares variou de 26 a 51 dias. A curva de progresso da doença mostrou diferenças entre as cultivares testadas, sendo que a 'Concord' e a 'BRS Vitória' foram as mais resistentes. Nas plantas inoculadas a 25 °C, o número de lesões aumentou ao longo do tempo, estabilizando-se aos 42-47 dias. Após esse período, não surgiram novas lesões, apenas lesões já estabelecidas aumentaram de tamanho. Dos tratamentos testados, o acetato de eugenila isoladamente ou acrescido de bicarbonato de potássio e o produto tecnológico PTCV tiveram melhor controle da doença reduzindo a severidade média aos 42 dias de avaliação em relação aos demais tratamentos. Os resultados obtidos neste trabalho definem que temperaturas mais elevadas (entre 26 e 28 °C) favorecem o desenvolvimento do patógeno. Cultivares Concord e BRS Vitória são mais resistentes a MFV, enquanto 'Bordô' e 'BRS Violeta' são as mais suscetíveis. O acetato de eugenila isoladamente ou acrescido de bicarbonato de potássio e o produto tecnológico PTCV são alternativas promissoras para controle da MFV.

Palavras-chave: *Vitis labrusca*. Infecção. Intensidade de doença. Suscetibilidade. Curva de progresso.

ABSTRACT

Grapevine leaf spot (GLS) is caused by the fungus *Pseudocercospora vitis*, an important disease in vineyards of *Vitis labrusca* cultivars and its hybrids. There are no reports in the literature that specify the conditions that favor the pathogen infection and whether this disease presents a difference in severity levels in the several grapevine cultivars. GLS occurrence causes early defoliation of the vine. Disease control is usually carried out by the use of the Bordeaux mixture. In the first part of this study, favorable conditions were defined for germination, germinative tube size and mycelial growth of *P.vitis* and the susceptibility of *V. labrusca* cultivars and hybrids GLS was studied. In the second part, the efficiency of using new products to control the disease in the field with high inoculum pressure was evaluated in two consecutive harvests. In a growth chamber, the GLS severity was quantified in ten different vine cultivars ('Bordô', 'Concord', 'Isabel', 'Isabel Pecoce', 'Niagara Rosada', 'BRS Carmem', 'BRS Cora'; 'BRS Violeta', 'BRS Vitória'). In the field phase, GLS severity was evaluated over time in the 2016/2017 and 2017/2018 harvests, checking the efficiency of disease control by the treatments: control (without application); water application; eugenyl acetate (0.1%) with or without potassium bicarbonate addition; Bordeaux mixture (0.3%); Serenade® (0.2%) applied alone or with cane syrup at 1% and 2%; and technological product (PTCV). The optimum temperature for the germination of *P. vitis* conidia was 28 °C, and for germinative tube growth, the ideal temperature was 27 °C. For mycelial weight, the optimum temperature was 26.4 °C. The highest pathogen germination occurred with 45.5 hours of wetting and 29.6 °C. The incubation period in the cultivars ranged from 26 to 51 days. The disease progress curve showed differences among the cultivars tested, with 'Concord' and 'BRS Vitória' being the most resistant ones. In plants inoculated at 25 °C, the number of lesions increased over time, stabilizing at 42-47 days. After this period, no new lesions appeared, only lesions already established increased in size. Of the treatments tested, eugenyl acetate plus potassium bicarbonate or not and the technological product PTCV had better control of the disease reducing the average severity at 42 days of evaluation in relation to the other treatments. The results obtained in this work define that higher temperatures (between 26 and 28 °C) favor the development of the pathogen. Cultivars Concord and BRS Vitória are more resistant to MFV, while 'Bordô' and 'BRS Violeta' are the most susceptible. Eugenyl acetate plus or not of potassium bicarbonate and the technological product PTCV are promising alternatives for the control of MFV.

Keywords: *Vitis labrusca*. Infection. Disease intensity. Suscetibility. Progress curve.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1. A e B, Mancha das folhas em *Vitis labrusca*, cultivar ‘Bordô’, no campo. C, estruturas reprodutivas do fungo, sinêmio onde os conídios são produzidos, observados sob um microscópio óptico em folhas de videira. D, Conidióforo com conídios agrupados em sinêmio observado sob um microscópio de luz. Barras de escala 200 µm (C) e 60 µm (D).....45
- Figura 2. A- Germinação de conídios (%), B- peso micelial (g) (14 dias de idade) e C- tamanho de tubo germinativo de *Pseudocercospora vitis*. Linha cheia corresponde à função Beta generalizada ($Y = Y_{ótima} \left(\frac{T - T_{mín}}{T_{ótima} - T_{mín}} \right)^{b_1} \text{ ou } \left(\frac{T_{ótima} - T_{mín}}{T_{máx} - T_{ótima}} \right) * \left(\frac{T_{máx} - T}{T_{máx} - T_{ótima}} \right)^{b_1}$) ajustada aos dados, em que $T_{mín}$ = temperatura mínima, $T_{ótima}$ = temperatura ótima, $T_{máx}$ = temperatura máxima, $Y_{máx}$ = germinação (%) ou peso micelial (g) máximo ou comprimento máximo do tubo germinativo, T = temperatura e b_1 = é um parâmetro do modelo, sem interpretação biológica). Para germinação $Y_{máx}$ foi fixado em 100%, e para peso micelial e tamanho do tubo germinativo o $Y_{máx}$ foi estimado pelo modelo.....46
- Figura 3. Superfície resposta da germinação de *Pseudocercospora vitis* em função da temperatura e período de molhamento, descrita pelo modelo Polinomial ($Y = b_1 + T * PM + T^2 + PM^2 + T * PM$, em que Y = germinação (%), b_1 = intercepto, sem explicação biológica, T = temperatura e PM = período de molhamento). A temperatura ótima de 29,6 °C estimada pelo modelo relacionada ao período de molhamento ótimo de 45,5 horas..... 47
- Figura 4. Curva de progresso da severidade média em mudas de videira avaliadas ao longo do tempo em resposta a infecção de *Pseudocercospora vitis*. Seta indica o tempo de avaliação até a estabilização da doença (47 dias após a inoculação)..... 48
- Figura 5. Estimativa das curvas de Kaplan-Meier pela análise de sobrevivência, descrevendo a probabilidade ao longo do tempo da planta se manter sem a ocorrência dos sintomas de *Pseudocercospora vitis* em diferentes cultivares de *Vitis labrusca* (A) e híbridas (B) inoculadas com *P. vitis*..... 49

CAPÍTULO II

Fig. 1 Dados meteorológicos da estação automática de Pinhais (PR), referente as estações de crescimento (a) 2016/2017; e (b) 2017/2018, coletados pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR). As barras verticais representam a precipitação média mensal (mm). As linhas representam as médias mensais das temperaturas: temperatura máxima (círculo); temperatura média (triângulo) e temperatura mínima (quadrado) 77

Fig. 2 Curva de progresso da incidência (porcentagem de folhas com sintomas) e da severidade (porcentagem de área foliar com sintomas) da mancha ds folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*) nos tratamentos testemunha (sem aplicação), safras (a, c) 2016/2017 e (b, d) 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil 78

Fig. 3 Curva de progresso da severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos e testemunha (sem aplicação), safras (a) 2016/2017 e (b) 2017/2018, Pinhais, Paraná Brasil. ¹ Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*. ² PTCV – produto tecnológico a base de extrato de planta. ³ Bicarbonato de potássio..... 79

Fig. 4 Porcentagem média de desfolha na última data de avaliação, em fevereiro, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos, nas safras (a) 2016/2017 e (b) 2017/2018. Barras com seus erros padrões. Letras iguais sobre as barras não diferem estatisticamente entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% significância, Pinhais, Paraná Brasil..... 80

ANEXOS

Figura 1. Severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos e testemunha (sem aplicação), na safra 2016/2017, Pinhais, Paraná, Brasil. Pontos representam as plantas avaliadas (quatro plantas por tratamento)..... 98

Figura 2. Severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos e testemunha (sem aplicação), na safra 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil. Pontos representam as plantas avaliadas (quatro plantas por tratamento)..... 99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1. Temperatura mínima, máxima e ótima para germinação de conídios, para peso micelial e crescimento do tubo germinativo de *Pseudocercospora vitis* 49
- Tabela 2. Período de incubação e latência (dias) de Mancha da folha da Videira, causada por *Pseudocercospora vitis* inoculada sobre discos de folhas de videira das cultivares Bordô e Isabel precoce submetidas a diferentes temperaturas. 50
- Tabela 3. Período de incubação (dias após a inoculação – DAI), severidade média e AACPD (Área Abaixo da Curva de progresso da Doença) de Mancha da folha da Videira, causada por *Pseudocercospora vitis* nas diferentes temperaturas em folhas de mudas de 10 cultivares de videira 50
- Tabela 4. Estimativas de risco relativo para a expressão de sintomas de *Pseudocercosporas vitis* estimadas pelo modelo semi-paramétrico Cox, seguidas dos intervalos de confiança de 95% as cultivares *Vitis labrusca* e seus híbridos 51

CAPÍTULO II

- Tabela 1. Descrição dos tratamentos testados em laboratório (*in vitro*) e à campo na cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), em plantas tratadas com os produtos alternativos nas safras 2016/2017 e 2017/2018 para controle da mancha das folhas da videira 81
- Tabela 2. Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) e severidade média aos 42 dias de avaliação da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*) tratadas com os produtos alternativos a campo nas safras 2016/2017 e 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil 82
- Tabela 3. Estimativa dos parâmetros epidemiológicos: assíntota máxima (y), inóculo inicial (y_0) e taxa de progresso da doença (r) obtidas da modelagem dos dados de severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô, plantas tratadas com os produtos alternativos, nas safras 2016/2017 e 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil 83
- Tabela 4. Valores de concentração efetiva ($\mu\text{g L}^{-1}$) para inibir 50% (EC50) da germinação de conídios e crescimento micelial de *P. vitis* para os diferentes produtos alternativos testados à campo, Pinhais, Paraná, Brasil 84

ANEXOS

Tabela 1. Erro padrão residual (Erro) e coeficiente de determinação entre valores observados e preditos (R^2) e critério de informação de Akaike (IAC), para os modelos linear, exponencial e logístico ajustados aos dados do progresso temporal da incidência da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos, nas safras 2016/2017 e 2017/2018. As estimativas da assíntota máxima (y), de inóculo inicial (y_0) e da taxa de progresso da doença (r) foram obtidas dos modelos logístico. 96

Tabela 2. Erro padrão residual (Erro) e coeficiente de determinação entre valores observados e preditos (R^2) e critério de informação de Akaike (IAC), para os modelos linear, exponencial e logístico ajustados aos dados do progresso temporal da severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com produtos alternativos, nas safras 2016/2017 e 2017/2018. As estimativas da assíntota máxima (y), de inóculo inicial (y_0) e da taxa de progresso da doença (r) foram obtidas dos modelos logístico. 97

LISTA DE ABREVIACOES

- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
- MFV – Mancha das folhas da Videira
- SIMEPAR – Sistema Meteorológico do Paraná
- PR – Paraná
- UFPR – Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
CAPÍTULO I - COMPONENTES DO MONOCICLO DA MANCHA DAS FOLHAS DA VIDEIRA E RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE <i>Vitis labrusca</i>.....	23
RESUMO	23
SUMARY	24
INTRODUÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	26
Obtenção do patógeno.....	26
Cultivo, produção de conídios e preparo da suspensão fúngica.	26
Germinação de conídios e tamanho do tubo germinativo de <i>Pseudocercospora vitis</i> em diferentes temperaturas e períodos de molhamento <i>in vitro</i>.	27
Peso micelial da colônia de <i>Pseudocercospora vitis</i> em diferentes temperaturas <i>in vitro</i>.	29
Período de incubação e latência da mancha das folhas da videira em diferentes temperaturas <i>ex vivo</i>.	30
Resistência de cultivares de videira à mancha das folhas da videira <i>in vivo</i>.	31
RESULTADOS.....	33
Germinação de conídios e tamanho do tubo germinativo de <i>Pseudocercospora vitis</i> em diferentes temperaturas e períodos de molhamento <i>in vitro</i>.	33
Peso micelial da colônia de <i>Pseudocercospora vitis</i> em diferentes temperaturas <i>in vitro</i>.	33
Período de incubação e latência da mancha das folhas da videira em diferentes temperaturas <i>ex vivo</i>.	34
Resistência de cultivares de videira à mancha das folhas da videira <i>in vivo</i>.	34

DISCUSSÃO	36
AGRADECIMENTOS	42
REFERÊNCIAS	42
CAPÍTULO II - ALTERNATIVAS DE CONTROLE DA MANCHA DAS FOLHAS DA VIDEIRA EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO ORGÂNICOS	52
RESUMO	52
ABSTRACT	53
1. INTRODUÇÃO	54
2. MATERIAL E MÉTODOS	56
2.1 Teste à campo.....	56
2.1.1 Aspectos gerais	56
2.1.2 Delineamento experimental	57
2.1.3 Avaliações à campo.....	58
2.2 Teste <i>in vitro</i>	59
2.2.1 Inibição da germinação de conídios de <i>Pseudocercospora vitis</i> em função das concentrações dos controles alternativos	60
2.2.2 Inibição do peso micelial de <i>Pseudocercospora vitis</i> em função das concentrações dos controles alternativos	61
3. RESULTADOS	62
3.1 Teste de campo.....	62
3.1.1 Safra 2016/2017	63
3.1.2 Safra 2017/2018	64
3.2 Inibição da germinação de conídios e peso micelial de <i>Pseudocercospora vitis</i> em função das concentrações dos controles alternativos	65

4. DISCUSSÃO	66
REFERÊNCIAS	72
REFERÊNCIAS GERAIS.....	85
ANEXOS	96

1. INTRODUÇÃO GERAL

A videira é a quarta fruta mais produzida mundialmente, ficando atrás apenas da banana, melância e maçã (FAO, 2019). A destinação da produção mundial de uva, segundo a estimativa da Organização Internacional de Uva e Vinhos, se dá em uvas para processamento e uvas não processadas. Em 2016 das mais de 72 milhões de toneladas de uva produzidas mundialmente, 39,3 milhões de toneladas foram destinadas para processamento e 33,3 milhões de toneladas de uvas não processadas. Para processamento, 35,9 milhões de toneladas foram para a produção de vinhos, totalizando uma produção de aproximadamente 27 milhões de litros da bebida (para produção de um litro de vinho são necessários 1,32 kg de uvas frescas). Os demais 3,7 milhões de toneladas foram destinados para produção de mostos e sucos. Da uva não processada, 26,8 milhões de toneladas eram uvas de mesa e 6,5 foram destinadas para a produção de uvas secas, neste caso, para um quilo de uva seca, são necessários quatro quilos da fruta fresca, resultando em uma produção de 1,5 milhões de toneladas de uvas secas.

O maior produtor mundial de uva é a China, com mais de 13 milhões de toneladas. O Brasil, ocupa a 19ª posição do ranque mundial, com 1,9 milhões de toneladas da fruta, dados referentes ao ano de 2017 (FAO, 2019). A produção brasileira de uva tem como principal finalidade o consumo do fruto *in natura* e a produção de sucos e vinhos de mesa. (IPARDES, 2018). A região sul brasileira, predominantemente a serra gaúcha (Rio Grande do sul) é responsável pela metade da produção nacional, com 956 mil toneladas da fruta, seguida pelo Vale do São Francisco, 677 mil toneladas (estados de Pernambuco e Bahia) (IBGE, 2019).

O estado do Paraná, ocupa a sexta posição nacional, com 56 mil toneladas de uva. O município com destaque pela maior produção paranaense (11 mil toneladas) é Marialva, na região norte do estado. A região metropolitana de Curitiba, ocupa a sexta

posição (3 mil toneladas) com destaques as regiões Almirante Tamandaré, Campo Largo, Colombo e São José dos Pinhais com produção entorno de 500 toneladas cada, dados referentes ao ano de 2017 (IBGE, 2019).

A cultura da videira apresenta grande predisposição as doenças foliares que acometem a cultura como: ferrugem (*Phakopsora euvitis*); mancha das folhas da videira (*Pseudocercospora vitis*); oídio (*Uncinula necator*); míldio (*Plasmopora viticola*) e a antracnose (*Elsinoe ampelina*) que além das folhas causa sintomas nos ramos jovens e em bagas ainda verdes. Dentre estas doenças, a mancha das folhas da videira (MFV) é uma doença muito importante na cultura, porque afeta especialmente, cultivos de videiras americanas (*Vitis labrusca* (L.)) e seus híbridos, ocorrendo no final do ciclo dessas plantas. Após a colheita, a doença se intensifica no vinhedo, favorecida pelas condições climáticas, onde temperatura e umidade são mais elevadas e há ocorrência de maiores volumes de chuva, além de ser um período em que os viticultores não realizam mais controles fitossanitários (AMORIM et al., 2016).

A MFV é causada pelo fungo *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg. (1910) - sinonímia *Isariopsis clavispora* ((Berk. & Curtis) Sacc. 1886), teleomorfo *Mycosphaerella personata* B.B. Higgins (1929) (MYCOBANK, 2015), pertencente ao filo Ascomycota, (MASSOLA Jr., 2018), da Ordem *Capnodiales*, que engloba agentes fitopatogênicos causadores de doenças em folhas, da família *Mycosphaerellaceae*, com maior ocorrência na fase anamórfica. O ataque da doença é mais severo em condições de alta temperatura e umidade, o que explica a maior ocorrência da doença durante verões chuvosos, aparecendo primeiro nas folhas mais velhas (SÔNEGO et al., 2003).

Esta doença está associada a uma desfolha precoce, o que pode afetar o acúmulo de carboidratos, fonte de nutrientes para a brotação do próximo ciclo e conseqüentemente a redução na produção da safra seguinte (LIANG et al., 2016) como já relacionado para

vários patógenos semelhantes em frutíferas. A exemplo tem-se a influência da desfolha causada pelo fungo *Tranzschelia discolor* na produtividade de pessegueiro (ALVES e MAY DE MIO, 2008) e a alta severidade do mofo-preto, *Pilgeriella anacardii*, afetando a produção em cajueiro-anão (CARDOSO et al., 2005). Para videira ainda não foram encontrados trabalhos científicos sobre danos e perdas causadas pela MFV.

Os sintomas da MFV, aparecem inicialmente, nas folhas mais velhas da planta como manchas irregulares que podem atingir até 2 cm de diâmetro com um halo amarelado ou verde claro bem visível, sendo normalmente muito numerosas e podendo coalescer. Na face abaxial da folha, no tecido correspondente ao sintoma, observa-se uma coloração pardacenta que são as frutificações do fungo, em estruturas denominadas de sinêmios, onde são produzidos os conídios. Não há perfurações, nem deformações das folhas. (AMORIM et al., 2016; WILCOX et al., 2016). A disseminação dos conídios produzidos nas lesões ocorre principalmente através do vento e por respingos de água de chuva e de irrigação (SÔNEGO et al., 2003; AMORIM et al., 2016).

A MFV é uma doença policíclica, com rápido aumento da epidemia ao longo do tempo, devido aos vários ciclos secundários de reprodução do fungo, que ocorrem dentro de um mesmo ciclo da cultura. Na literatura não há relatos de trabalhos que determinam as condições ideais para o processo de infecção de *P. vitis*, como a germinação e o crescimento micelial, fato que enobrece a linha de pesquisa deste trabalho. O entendimento destas duas variáveis é muito importante para compreender como ocorre a infecção, ou seja, quais fatores afetam desde a deposição dos esporos do patógeno, a penetração e colonização do tecido hospedeiro até a reprodução do fungo, processo denominado de monociclo do patógeno (BERGAMIN FILHO et al., 2018). O conhecimento das condições favoráveis para o desenvolvimento do fungo são importantes para definir estratégias de controle da doença já estudados em alguns patossistemas, como

para a mancha de alternaria em girassol (*Alternaria helianthi*) (LEITE e AMORIM, 2002) e a podridão estilar em goiabas (*Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum parvum* e *Neofusicoccum ribisforam*) (NOGUEIRA Jr et al., 2016).

Em relação ao hospedeiro, videiras da espécie *V. labrusca* e seus híbridos, são relatadas como propensas a ocorrência da MFV (AMORIM et al., 2016), apresentando diferentes níveis de suscetibilidades a esta epidemia. Para esta doença não há estudos que diferenciem a resposta da planta ao ataque do patógeno nas diferentes cultivares existentes e nas cultivares que são lançadas no mercado pelos órgãos de pesquisa. O entendimento da suscetibilidade da videira a MFV pode auxiliar na escolha de materiais com menor propensão à severidade causada pelo fungo, ou ainda, melhorar a distribuição geográficas das cultivares em função de áreas com grande pressão de inóculo.

No campo, a doença alcança máxima incidência no final do ciclo da cultura, como observado por Ferreira (2012), que constatou que temperaturas mais elevadas e maiores volumes de precipitação influenciam o aumento da epidemia ao longo do tempo, aliado a redução ou nulidade de aplicações fitossanitárias pelos produtores, devido ao término da colheita da uva (PEDRO JUNIOR et al., 1999). O conhecimento do comportamento da MFV a campo, época de início, seguido pelo aumento da incidência e consequentemente da severidade ao longo do tempo, geram informações que descrevem a doença, auxiliando assim, o entendimento para o melhor manejo da cultura à campo. Parâmetros epidemiológicos, gerados pelo uso de modelagem dos dados já são bastante usados em frutíferas (BAGGIO et al., 2017, MORALES et al., 2018; MOREIRA et al., 2014). Por meio deles pode-se determinar o inóculo inicial e a taxa de aumento da doença, bem como, inferir sobre as curvas de progresso da doença ao longo do tempo, caracterizando a interação patógeno, hospedeiro e ambiente, definindo estratégias de controle e possíveis níveis futuros de doença.

O controle da MFV, em vinhedos em sistema convencional, é realizado pelo emprego de fungicidas sintéticos. Em sistema orgânico, utiliza-se em larga escala fungicidas cúpricos, em especial a mistura de hidróxido de cálcio com o sulfato de cobre, conhecida como calda bordalesa, a qual muitas vezes é aplicada também em cultivos convencionais. O cobre é um biocida de amplo espectro, atuando na integridade da membrana celular do patógeno, onde ocorre interação com ácidos nucleicos, interrupção de sítios ativos de enzimas e interferência no sistema de transporte de energia (FLEMING e TREVORS, 1989). Apesar de controlar a doença, a liberação de compostos de cobre quando dissolvidos em água em excesso são absorvidos pelas plantas na forma de íons Cu, levando ao dano, também conhecido como fitotoxicidade (LAMICHHANE et al., 2018). Além disso, muitos estudos mostram que a aplicação de cúpricos realizada em vinhedos, torna-se tóxico para as raízes das plantas (AMBROSINI et al., 2015; JUANG et al., 2019) uma vez que interfere na absorção de ferro e outros nutrientes, especialmente em solos ácidos onde o pH não é bem controlado.

Na busca de novas alternativas de controle de doenças de plantas em sistemas orgânicos e pensando em reduzir resíduos tóxicos na época da colheita, pesquisas vêm mostrando bons resultados com a utilização de controles alternativos para as mais diversas doenças de plantas. Alguns trabalhos se utilizam da aplicação de extratos de plantas no controle das mais diversas doenças. Extrato da parte aérea de plantas de *Artemisia campestris*, *Artemisa absinthium* e *Clinopodium vulgare* apresentam inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Phytophthora cambivora*, enquanto extrato de flores de *Salvia officinalis* apresenta maior efeito sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata* e *Botrytis cinerea* (NIKOLOVA et al., 2017). Para *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* (Hasse), agente causal do cancro cítrico, o extrato de *Allium sativum* reduz a multiplicação da bactéria *in vitro* (TAHIR et al., 2016).

Outra forma alternativa de controle de doenças muito estudada são os óleos essenciais. Sua atividade antifúngica e seu modo de ação são diretamente influenciados pela natureza e proporção dos componentes que contêm em sua composição (KUMAR e KUDACHIKAR, 2018). Para *Alternaria solani*, óleos essenciais de *Olivaria decumbens*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Carum copticum* e *Thymus kotschyanus*, inibem completamente o crescimento micelial do fungo, sendo que para *O. decumbens*, concentrações de 0,25 μL^{-1} , já apresenta inibição sobre *A. solani* (BAHRAMINEJAD et al., 2016). A aplicação de óleo essencial de tomilho juntamente com quitosana, utilizando a nanotecnologia, reduz em 60% a incidência de *Colletotrichum gloesporioides* até oito dias de armazenamento de abacates, sem afetar a qualidade do fruto (CORREA-PACHECO et al., 2017). Na pós-colheita de citrus, o uso de óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides*, à 0,05%, reduz em até 40% a reprodução de *Phyllosticta citricarpa*, agente causal da mancha preta do citrus, em frutos com presença de sintomas típicos da doença mas, sem estruturas reprodutivas do fungo, armazenados a 5 °C por 20 dias e posteriormente, mantidos a temperatura ambiente por mais sete dias. Para o controle do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), na pós-colheita de uvas de mesa, tratadas com óleos essenciais de hortelã (*Mentha piperita*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) há uma redução de até 65% da incidência do mofo. Nesse caso, o uso destes óleos seria uma alternativa para a agricultura orgânica, onde não é permitido o empregado de tratamentos com fungicidas convencionais durante a estação (SERVILI et al., 2017). Além destes, trabalhos com microrganismos como a bactéria gram-positiva *Bacillus subtilis*, mostram sua eficiência no controle da podridão do cacho em uva, agente causal *Botrytis cinerea* (CALVO-GARRIDO et al., 2019) e no controle da mancha foliar de *Glomerella*, *Colletotrichum acutatum* (MOREIRA et al., 2014).

Assim, este trabalho foi desenvolvido em duas etapas para buscar soluções para os problemas levantados. Na primeira etapa objetivou-se: a) descrever o monociclo da *P. vitis* e estudar temperaturas e períodos de molhamento na germinação de conídios no tamanho do tubo germinativo e o peso micelial; b) avaliar a suscetibilidade de diferentes cultivares de videira a MFV. Para a segunda etapa do trabalho; c) a severidade da MFV foi quantificada, ao longo do tempo e de duas safras; d) avaliou-se comparativamente a eficiência de novos produtos para controle da doença.

CAPÍTULO I - COMPONENTES DO MONOCICLO DA MANCHA DAS FOLHAS DA VIDEIRA E RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE *Vitis labrusca*¹

E. A. R. Rogovski-Czaja¹, R. R. Moreira¹, C. N. Nesi², H. S. S. Duarte¹ e L. L. May De Mio¹.

¹Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR 80035-050, Brasil

² Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Chapecó, SC 89801970, Brasil

Autor para correspondência: Louise Larissa May De Mio
E-mail: maydemio@ufpr.br

RESUMO

A mancha das folhas da videira causada por *Pseudocercospora vitis* é importante no final do ciclo de *Vitis labrusca* e seus híbridos, porém estudos sobre este patossistema e seus componentes monociclos são escassos. Neste trabalho objetivou-se determinar as condições favoráveis para o desenvolvimento do patógeno e estudar níveis de resistência em dez cultivares de videira. A germinação de conídios de *P. vitis* foi avaliada nas temperaturas entre 4 e 35 °C, o tamanho do tubo germinativo de 8 a 33 °C, e o peso de colônias do patógeno nas temperaturas de 10 a 40 °C. Em experimento combinado avaliou-se períodos de molhamento de 3 a 48 horas nas temperaturas de 10 a 40 °C. Em cinco cultivares de *V. labrusca* e cinco híbridas inoculadas com *P. vitis*, comparou-se período de incubação e o progresso da severidade da doença em condições controladas. A temperatura ótima para germinação de *P. vitis* foi 28 °C e para tubo germinativo 27 °C. Para peso micelial a temperatura ótima foi 26,4 °C. A maior germinação do patógeno ocorreu com molhamento de 45,5 horas e temperatura de 29,6 °C. O período de incubação nas cultivares variou de 26 a 51 dias. A curva de progresso da doença mostrou diferenças entre cultivares testadas, sendo a que a 'Concord' e a 'BRS Vitória' foram as mais resistentes. Nas plantas inoculadas a 25 °C, o número de lesões aumentou ao longo do tempo, estabilizando-se aos 42-47 dias, após esse período não surgiram novas lesões, apenas lesões já estabelecidas aumentaram de tamanho.

Palavras chave: Germinação de conídios, período de incubação, período de latência, viticultura.

SUMMARY

Grapevine leaf spot caused by *Pseudocercospora vitis* is important at the end of the vegetative cycle of *Vitis labrusca* and its hybrids, but studies on this pathosystem and its monocyclic components are scarce. The objective of this work was to determine the favorable conditions for the development of the pathogen and to study the resistance levels in 10 grapevine cultivars. The germination of *P. vitis* conidia was evaluated at temperatures from 4 to 35 °C, germ tube size from 8 to 33 °C and weight of colonies of the pathogen from 10 to 40 °C. Wetness periods of 3 to 48 h were also evaluated for germination at temperatures from 10 to 40 °C. In five cultivars of *V. labrusca* and five hybrids inoculated with *P. vitis*, the incubation period and the progression of disease severity under controlled conditions were compared. The optimal temperature for germination of *P. vitis* was at 28 °C and 27 °C for germ tube growth. For mycelial weight the optimum temperature was 26.4 °C. The highest germination of the pathogen occurred with wetness of 45.5 h and temperature of 29.6 °C. The incubation period in the cultivars ranged from 26 to 51 days. The disease progress curve showed differences among cultivars tested, ‘Concord’ and ‘BRS Vitória’ being the most resistant. In plants inoculated at 25 °C, the number of lesions increased over time, stabilizing at 42-47 days, after this period no new lesions appeared, only lesions already established increased in size.

Key words: Conidial germination, incubation period, latent period, viticulture.

INTRODUÇÃO

A Mancha da folha da Videira, é causada pelo fungo *Pseudocercospora vitis* ((Lév.) Speg. – sinonímia de *Isariopsis clavispora* (Berk. & Curtis) Sacc., teleomorfo *Mycosphaerella personata*). Esta doença já foi relatada Irã, China, Coreia, Argentina e Brasil (Bakhshi et al. 2014; Liang et al. 2016; Park et al. 2004, 2006, 2014; Sisterna e Ronco, 2005). Nos vinhedos brasileiros, especialmente a região sul do país, está entre as principais doenças de final de ciclo da cultura nas videiras americanas *V. labrusca* e híbridos.

Os sintomas da doença aparecem inicialmente nas folhas mais velhas da videira (Figura 1A e 1B). Na região sul do Brasil a ocorre no final dos meses de novembro, início de dezembro. O principal sintoma inicial são lesões de cor marrom que posteriormente, tornam-se mais escuras, na face abaxial aparecem as estruturas reprodutivas do fungo, denominadas de sinemios (Figura 1C e 1D). Estas estruturas são observadas nas duas faces da folha, mas em maior quantidade na face abaxial. A doença leva a queda prematuras das folhas logo após a colheita dos frutos, se tornando mais intensificada em locais onde à falta de realização do controle fitossanitário, com isso ocorre a redução das reservas nas gemas e posteriormente perda de vigor da planta na safra subsequente (Amorim et al. 2016; Liang et al. 2016; Park et al. 2004).

No sul do Brasil, as condições climáticas na época da colheita dos vinhedos coincidem com temperaturas mais elevadas e alta úmida, fatores que favorecem o desenvolvimento da mancha da folha. Nesta época os tratos culturais voltados as doenças de final de ciclo são reduzidos ou não são realizados pelos viticultores (Amorim et al. 2016). Assim, conhecer as condições que favorecem o processo de desenvolvimento da doença é fundamental para auxiliar os viticultores a desenvolver estratégias que se apresentem eficazes no controle da doença. Na literatura são escassas as informações

sobre este patossistema e dos componentes do seu monociclo, sendo raras as informações que contemplem desde o processo germinativo até a esporulação, bem como publicações que possam descrever o progresso temporal da doença nas cultivares mais plantadas na região sul e muito menos nas novas cultivares lançadas (Liang et al. 2016; Park et al. 2004).

Nos vinhedos, o controle da doença é feito por meio de fungicidas e produtos alternativos como a calda bordalesa (Anônimo, 2011). Programas de manejo da doença, buscam conseguir a resistência do hospedeiro de maneira combinada e/ou complementada com as outras medidas para que se obtenha o controle da doença de forma mais eficiente. É conhecido que as diferentes cultivares de videira de *V. labrusca* apresentem características quanto a resistência a diferentes doenças como oídio e míldio (Atak et al.2017; Barros et al. 2018), mas pouco se conhece sobre a resistência desses genótipos a mancha da folha da videira.

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar as condições favoráveis para o desenvolvimento do patógeno e da doença e avaliar a resistência de cultivares *V. labrusca* e híbridas a mancha da folha da videira.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do patógeno. Folhas de videira sintomáticas foram coletadas nas safras 2015/16 e 2016/17, em pomar localizado em área de proteção ambiental (Fazenda Canguiri), no município de Pinhais (25°25' S e 49°16' W), a aproximadamente 900 m de altitude.

Cultivo, produção de conídios e preparo da suspensão fúngica. Para os testes *in vitro* (germinação em função da temperatura e do período de molhamento; peso micelial nas diferentes temperaturas), foi realizado o isolamento de *P. vitis* para obtenção da cultura

pura. Para isso, foi realizado o isolamento direto de *P. vitis* retirando conídios de folhas sintomáticas de videira, com auxílio de um estilete, sob microscópio de luz e transferidos para placas de Petri (90 mm de diâmetro) contendo meio ágar água 2% e mantidos a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas em estufas tipo BOD. O isolado foi armazenado em discos de papel filtro em sílica gel, mantido em congelador.

Para a produção de conídios, quatro discos de micélio (6 mm de diâmetro cada) da colônia de *P. vitis*, com 21 dias de idade, foram colocados em Erlenmeyer de 250 ml contendo 100 ml de meio líquido autoclavado V8®, suco de vegetais industrializado, a 20% (20 ml de V8® em 80 ml de água destilada) acrescido 5 g l⁻¹ do antibiótico estreptomicina. O meio foi mantido sob agitação constante (120 rpm), sob escuro contínuo por três dias para crescimento do micélio. Após este período, uma alíquota de 1 ml do meio líquido foi depositada sobre placa de Petri (9 mm de diâmetro) contendo 15 ml de BDA. As placas foram acondicionadas em BOD com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas (adaptado de Maia et al. 2015). No quinto dia, foi preparada uma suspensão fúngica através da raspagem dos conídios produzidos nas placas com auxílio da alça de Drigalski, com a adição de 2 ml de água destilada esterilizada.

Para os testes em discos de folhas e avaliação da resistência dos genótipos, a suspensão fúngica foi obtida diretamente das folhas sintomáticas coletadas no vinhedo. Os conídios foram retirados das lesões das folhas por meio da agitação das folhas em água destilada esterilizada, formando a suspensão de conídios.

Germinação de conídios e tamanho do tubo germinativo de *Pseudocercospora vitis* em diferentes temperaturas e períodos de molhamento *in vitro*. A avaliação da germinação de conídios, nas temperaturas de 4, 6, 10, 12, 15, 18, 20, 22, 25, 28, 30, 33 e 35 °C foi realizada no escuro, sendo quatro placas por temperatura. Alíquotas de 100 µL

de suspensão fúngica de *P. vitis*, na concentração de 3×10^4 conídios mL⁻¹, foram depositadas em placas de Petri contendo meio de cultura ágar água (2%), posteriormente estas foram vedadas com plástico filme de policloreto de polivinila e mantidas nas temperaturas de avaliação. Após 24 horas, a germinação foi paralisada com a adição de uma gota de lactofenol de Amann espalhada sobre o meio de cultura.

Para o teste de germinação em função da temperatura e do período de molhamento, foram avaliadas 7 temperaturas (5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C) combinadas com 6 períodos de molhamento (3, 6, 9, 12, 24 e 48 horas). Para cada combinação, utilizou três placas de poliestireno (90 mm de diâmetro) e em cada placa foi depositado três alíquotas equidistantes, de 50 µL de suspensão de conídios na concentração de 2×10^4 conídios mL⁻¹. As placas ficaram abertas dentro de caixa plástica tipo gerbox (250 ml) contendo papel filtro umedecido com 20 ml de água destilada esterilizada e mantidas em câmara de crescimento BOD nas diferentes temperaturas. Para a interrupção do processo de germinação em cada período de molhamento pré-determinado, foi adicionada uma gota de lactofenol de Amann à alíquota de suspensão fúngica. A avaliação da porcentagem de germinação constituiu na contagem, em microscópio de luz, dos 100 primeiros conídios encontrados em cada alíquota. Foi considerando conídio germinado, aquele que apresentava tubo germinativo de tamanho igual ou superior ao comprimento do seu tamanho do conídio.

Para o tamanho do tubo germinativo, foram avaliadas 6 temperaturas (8, 13, 18, 23, 28 e 33 °C), sendo três repetições por temperatura. Cada placa de Petri (9 cm de diâmetro) continha meio BDA onde posteriormente, foi depositado sobre o meio uma gota de 40 µl de suspensão de conídios de *P vitis* na concentração de 1×10^4 conídios mL⁻¹. As placas foram incubadas nas temperaturas de avaliação por 24 horas, no escuro. A paralização da germinação após 24 horas foi feita utilizando-se lactofenol de Amann.

Foi medido o tamanho do tubo germinativo de 20 conídios com o auxílio de um microscópio de luz. Para os dados de percentagem de germinação em função da temperatura e para o comprimento do tubo germinativo, foi ajustado o modelo Beta-generalizada (Bassanezi et al. 1998), descrito pela equação:

$$Y(T) = Y_{opt} * \left[\frac{(T - T_{min})}{(T_{opt} - T_{min})} \right]^{b_1 \left(\frac{(T_{opt} - T_{min})}{(T_{max} - T_{opt})} \right)} * \left[\frac{(T_{max} - T)}{(T_{max} - T_{opt})} \right]^{b_1}$$

onde: Y_{opt} refere-se ao valor de conídios germinados ou ao tamanho do tubo germinativo na temperatura ótima; T corresponde a temperatura (°C); T_{min} , T_{opt} e T_{max} representam as temperaturas mínima, ótima e máxima, respectivamente; b_1 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica.

Para avaliar a germinação em função da temperatura e do período de molhamento, utilizou-se o ajuste de superfície resposta, descrita pelo modelo Polinomial:

$$Y = b_1 + T * PM + T_2 + PM_2 + T * PM$$

em que Y = germinação (%), b_1 = intercepto, T = temperatura e PM = período de molhamento.

Peso micelial da colônia de *Pseudocercospora vitis* em diferentes temperaturas *in vitro*. Para avaliar o peso micelial de *P. vitis* sob as temperaturas 10, 15, 22, 25, 28, 30 e 35 °C, quatro placas de Petri (90 mm de diâmetro), contendo 15 ml de meio de cultura BDA foram utilizadas para cada temperatura. Em cada placa foi depositado quatro discos de micélio de 5 mm cada, de colônias com 20 dias de idade. Posteriormente, estas placas foram mantidas em BOD nas diferentes temperaturas com fotoperíodo de 12 horas, luz fluorescente. A avaliação do peso micelial constituiu na pesagem da colônia formada em cada unidade experimental após 14 dias de incubação. A colônia foi retirada da placa com auxílio de uma espátula após a solubilização à quente do meio de cultura, em seguida, o

micélio foi lavado em água corrente e secado em estufa a temperatura de 40 °C, até a estabilização do peso (aproximadamente quatro dias).

Aos dados de peso micelial ajustou-se o modelo Beta-generalizada (Bassanezi, 1998), descrito pela equação:

$$Y(T) = Y_{opt} * \left[\frac{(T - T_{min})}{(T_{opt} - T_{min})} \right]^{b_1^{\left(\frac{(T_{opt}-T_{min})}{(T_{max}-T_{opt})}\right)}} * \left[\frac{(T_{max} - T)}{(T_{max} - T_{opt})} \right]^{b_1}$$

onde: Y_{opt} refere-se ao valor do peso da massa micelial na temperatura ótima; T corresponde a temperatura (°C); T_{min} , T_{opt} e T_{max} representam as temperaturas mínima, ótima e máxima, respectivamente; b_1 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica.

Período de incubação e latência da mancha das folhas da videira em diferentes temperaturas *ex vivo*. Avaliou-se o período de incubação e latente da doença sob as temperaturas 10, 15, 22, 25, 28, 30 e 35 °C em duas cultivares (Bordô e Isabel precoce). Folhas sadias entre 30 a 50 dias de idade foram coletadas de plantas cultivadas em casa de vegetação. Foram utilizadas 4 repetições, sendo cada repetição uma placa de Petri (90 mm de diâmetro) contendo 10 ml de meio sólido Ágar-água (2%). Em cada placa foi colocado sobre o meio de cultura papel filtro umedecido e posteriormente colocados três discos de folhas sobre o papel filtro. Para obter os discos de folha, as folhas foram lavadas três vezes em água corrente, e uma vez em água destilada esterilizada sendo deixadas sobre papel toalha para secagem. As folhas foram cortadas em discos (6 mm de diâmetro). Cada disco de folha foi inoculado com 50 µl da suspensão de $2,5 \times 10^4$ conídios mL⁻¹, com auxílio de uma micropipeta. As placas foram fechadas e vedadas com plástico filme de policloreto de polivinila e incubadas em BOD sob as diferentes temperaturas, com fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas em intervalos de um a dois dias, iniciando a partir do quinto dia da inoculação. Avaliou-se para cada cultivar, o período de incubação (período decorrido em dias entre a deposição do inóculo na superfície do hospedeiro e o aparecimento dos sintomas em 2/3 das folhas avaliadas por placa) e o período de latência (período decorrido em dias entre a deposição do inóculo na superfície do hospedeiro e o aparecimento dos sinais (sinêmios) em 2/3 das folhas avaliadas por placa). Os sintomas e os sinais foram observados em microscópio de luz, até a senescência do material foliar. O experimento foi repetido uma vez.

Resistência de cultivares de videira à mancha das folhas da videira *in vivo*. O experimento foi realizado seguindo o delineamento inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos foram 10 cultivares de videira, sendo cinco cultivares *Vitis labrusca*: Bordô, Concord, Isabel, Isabel precoce e Niágara rosada e cinco cultivares híbridas: BRS Cora, BRS Violeta, BRS Carmem, BRS Vitória e BRS Magna. A repetição consistiu em um ramo de uma planta cultivada em vasos de 2,2 l com solo esterilizado, mantidas em casa de vegetação. As folhas foram inoculadas com uma suspensão de $2,5 \times 10^4$ conídios mL⁻¹ de *P. vitis*, com auxílio de um pulverizador de 500 ml (Pulverizados Boulevard, Sanremo®, Brasil) até o escorrimento da suspensão na folha. A inoculação foi realizada na face abaxial da folha, sendo pulverizadas as três folhas mais próximas a base do ramo (folhas maduras) e três folhas localizadas abaixo da segunda folha do ápice (folhas novas). Após a inoculação, sacos plásticos foram colocados sobre o ramo da planta e com um algodão umedecido na base do ramo, formando uma câmara úmida. As plantas foram mantidas a temperatura de 27 °C por 48 horas e fotoperíodo de 12 horas, em câmara de crescimento tipo fitotron (Instalafrio®, Brasil). Após este período, os sacos plásticos foram retirados e as plantas foram mantidas na temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada em intervalos de um a três dias

a partir do quinto dia da inoculação até os 57 dias após a inoculação. Foram avaliados período de incubação (dias), quando foi observado mais de 50% das folhas em cada repetição com a presença de sintomas da doença e a severidade da doença por meio de uma escala diagramática (Lenz et al. 2009).

Com os dados de severidade da doença ao longo do tempo, calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de cada cultivar (Shaner e Finney, 1977). Primeiramente calculou-se a AACPD total, desde a inoculação até o 57º dia após a inoculação, posteriormente dividiu-se o intervalo de tempo da avaliação em dois períodos para o cálculo de mais duas AACPD, sendo o primeiro da inoculação até o 47º dia e o segundo, do 47º dia até o 57º dia de avaliação. Os dados de AACPD foram submetidos aos pressupostos da análise de variância e as médias foram comparados pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A partir dos dados coletados de severidade ao longo do tempo, foi realizada análise de sobrevivência. Considerou-se a probabilidade das plantas se manterem sem a ocorrência dos sintomas da mancha das folhas da videira ao longo do tempo. Para esta análise, dividiu-se as cultivares em dois grupos: *V. labrusca* e híbridas. Foram construídas curvas de Kaplan-Meier para avaliar o risco de aparecimento de sintomas e ajustado o modelo semi-paramétrico de Cox para comparar as cultivares. As análises foram baseadas na teoria descrita em Carvalho et al. (2011).

Todas as análises dos dados deste trabalho foram realizadas com o ambiente R (R Core Team, 2015). O pacote 'Survival' foi usado para a análise de sobrevivência (Therneau, 2012).

RESULTADOS

Germinação de conídios e tamanho do tubo germinativo de *Pseudocercospora vitis* em diferentes temperaturas e períodos de molhamento *in vitro*. Os conídios de fungo *P. vitis* germinaram em todas as temperaturas e períodos de molhamento avaliados, exceto a 10 e 40 °C e período de molhamento de 3 horas. A 6 e 9 horas de molhamento, temperaturas 25 e 35 °C apresentaram a menor média de germinação (1%) e a 30 °C ocorreu a maior média (14%). Após 12 horas de molhamento os valores máximos de germinação foram de 16% para 25 °C e de 51% para 30 °C.

Pela estimada do modelo beta-generalizada, a temperatura mínima de germinação de *P. vitis* foi de 4,7 °C, a máxima foi de 40,7 °C e a ótima foi de 28,0 °C (variando de 26,5 a 29,4 °C) (Tabela 1; Figura 2a). Para tamanho de tubo germinativo, a estimativa das temperaturas foram de mínima de 0,0°C, ótima de 27,0°C e de máxima de 36,0°C, com máximo tamanho de tubo germinativo de 31,7 µm (Figura 2c).

Considerando a interação entre temperatura e o período de molhamento, a estimativa do modelo estatístico polinomial para a faixa favorável à germinação de *P. vitis* ocorreu na temperatura de 29,6 °C e molhamento acima de 45,5 horas (Figura 3).

Peso micelial da colônia de *Pseudocercospora vitis* em diferentes temperaturas *in vitro*. As colônias de *P. vitis* não apresentaram crescimento de micélio nas temperaturas de 5 e 35 °C. Através da função estatística beta-generalizada, a estimativa da temperatura ótima para o aumento do peso micelial da colônia de *P. vitis* foi de 24,7 °C (variando 22,9 a 26,4 °C), correspondendo ao peso de aproximadamente 0,1g (variando de 0,8 a 1,2g) (Figura 2b). A temperatura mínima estimada foi de 1,0 °C e a máxima de 35,3 °C (variando de 33,7 a 36,9 °C) (Tabela 1).

Período de incubação e latência da mancha das folhas da videira em diferentes temperaturas *ex vivo*. A doença ocorreu nas temperaturas entre 20 a 30 °C. Temperaturas de 10, 15 e 35 °C não foram observados sintomas da doença (Tabela 2). O menor período de incubação observado foi a 25 °C, sendo de 27 dias para a cultivar Bordô e de 23 °C para a cultivar Isabel precoce. A 20 °C, foram observados os maiores períodos de incubação, os sintomas começaram a aparecer a partir dos 39 dias após a inoculação na cultivar Isabel precoce e 40 dias na ‘Bordô’. Na temperatura de 30 °C, os sintomas foram observados 35 dias após a inoculação em ‘Isabel precoce’ e 36 dias em ‘Bordô’.

O menor período de latência de *P. vitis* foi a 25°C, sendo de 25 dias para a cultivar Isabel precoce e de 29 dias para a cultivar Bordô e maior na temperatura de 20 °C, 40 dias para ‘Isabel precoce’ e 42 dias para ‘Bordô’. Observou-se em geral uma média de dois dias entre o aparecimento do sintoma e o desenvolvimento de sinêmio.

Resistência de cultivares de videira à mancha das folhas da videira *in vivo*. Todas as cultivares apresentaram sintomas à mancha da folha da videira. Para as *V. labrusca*, o menor período de incubação em folhas maduras foi na cultivar Bordô (26 dias) e em folhas jovens foi em ‘Isabel’ e ‘Isabel precoce’ (30 dias). Considerando as duas idades fisiológicas das folhas, a menor média de incubação foi nas cultivares ‘Isabel’ e ‘Isabel precoce’ (31 e 30 dias, respectivamente) e maior para ‘Concord’ (42 dias) (Tabela 3).

Para as cultivares híbridas, o menor período de incubação em folhas maduras foi para ‘BRS Violeta’ e ‘BRS Magna’ (27 e 28 dias, respectivamente) e em folhas jovens foi a cultivar BRS Violeta (33 dias), a qual também apresentou a menor média de período de incubação para as duas idades fisiológicas das folhas (30 dias).

Para comparação entre as 10 cultivares avaliadas quanto a suscetibilidade, usou-se como critério a AACPD, calculada em três períodos diferentes de intervalos de tempo: AACPD1 - período total, da inoculação até o 57º dia de avaliação; AACPD2 - da

inoculação até a estabilização dos sintomas aos 47º dia de avaliação; AACPD3 - após a estabilização, do 47º dia até o 57º dia de avaliação (Figura 4). Para a AACPD total, ocorreram dois níveis de suscetibilidade, sendo consideradas mais suscetíveis as cultivares Bordô, Isabel, Niagara rosada e BRS Violeta, o segundo nível, formado pelas demais cultivares, apresentaram maior resistência. Para a AACPD2 a cultivar BRS Violeta diferiu das demais cultivares, apresentando o maior valor de AACPD, sendo considerada como a mais suscetível no início da infecção até a estabilização (Tabela 4). O segundo nível, considerado nível intermediário de resistência, foi formado por ‘Bordô’, ‘Isabel’ e ‘Niagara rosada’ e o terceiro, considerado as mais resistentes, pelas cultivares Concord, Isabel precoce, BRS Carmem, BRS Cora, BRS Magna e BRS Vitória. Para a AACPD3, dois níveis de suscetibilidade ocorreram, sendo o primeiro mais suscetível formada pela maioria das *V. labrusca*, ‘Bordô’, ‘Isabel’, ‘Isabel precoce’, ‘Niagara rosada’ e pelas híbridas ‘BRS Cora’ e ‘BRS Violeta’.

Para a severidade ao longo do tempo à mancha das folhas da Videira até o 47º dia da avaliação, a maioria das cultivares apresentaram os menores valores de severidade média, diferindo da ‘Bordô’, ‘Isabel’, ‘Niagara rosada’ e ‘BRS Violeta’ representantes do grupo com maior severidade média. Após a estabilização aos 47 dias até o 57º dia de avaliação, permaneceram com menor severidade média apenas uma *V. labrusca*, ‘Concord’ e três híbridas, ‘BRS Carmem’, ‘BRS Magna’ e ‘BRS Vitória’ (Tabela 3).

A estimativa de risco relativo para a expressão de sintomas de *P. vitis* analisadas pelo modelo semi-paramétrico Cox, referente ao agrupamento das cultivares em *V. labrusca* e em híbridas, mostrou diferença entre as cultivares em relação a cultivar padrão (Tabela 4). A cultivar padrão foi selecionada em função da maior severidade média, sendo ‘Bordô’ para *V. labrusca* e ‘BRS Violeta’ para as híbridas. Para as *V. labrusca*, a ‘Niagara rosada’ foi semelhante a cultivar padrão, as demais, ‘Concord’,

‘Isabel’ e ‘Isabel precoce’ apresentaram 0,329, 0,469 e 0,520 vezes menor chance de expressar sintomas, respectivamente, em relação a ‘Bordô’. Para o grupo das híbridas, a cultivar padrão BRS Violeta, diferiu das demais híbridas, onde ‘BRS Carmem’, ‘BRS Cora’, ‘BRS Magna’ e ‘BRS Vitória’ apresentaram 0,054, 0,077, 0,057 e 0,044 vezes menor chance de expressar sintomas, respectivamente.

A análise de sobrevivência das folhas estimou que todas as cultivares testadas neste trabalho apresentarão sintomas da doença mancha da folha da videira ao longo tempo. Para as híbridas, ‘BRS Violeta’ tem a probabilidade de 100% de expressar sintomas da doença em apenas 40 dias da inoculação de *P. vitis*. Para as *V. labrusca*, há estimativa da probabilidade de apresentarem algum sintoma aos 35 dias, porém sem atingir 100% até 60 dias (Figura 5).

DISCUSSÃO

No presente trabalho foi avaliado componentes do monociclo de *P. vitis* e resistência de 10 cultivares de videira a doença da mancha da folha. O patógeno se desenvolve em amplas faixas de temperatura mostrando alta adaptação para diferentes condições climáticas e em especial em temperaturas elevadas, onde observou-se menor período de latência da doença. Seis cultivares foram mais resistentes a mancha da folha da videira podendo ser recomendadas para regiões com clima sub tropical, onde essas cultivares vem se expandindo no Brasil. Esses resultados servirão como base para elaboração de estratégias de manejo no vinhedo considerando escolha das cultivares e também para estudos epidemiológicos comparativos ao longo de diferentes safras.

Estudos para determinar a faixa de variação entre as temperaturas, mínimas e máximas, calculadas para a maioria dos fitopatógenos estudados na literatura, demonstram a habilidade destes organismos em infectar e desenvolver a doença no hospedeiro nas

condições de diferentes temperaturas do ambiente. Para *P. vitis*, a variação destas temperaturas estimadas pelo modelo estatístico foi de mínima de 4,67 °C e máxima de 40,7 °C, o que garante ao patógeno sua presença no vinhedo em condições climáticas mais amenas, sendo seu desenvolvimento favorecido nas épocas mais quentes do ano, no verão, época do pleno desenvolvimento do hospedeiro e temperaturas diárias próximas a ótima estimada de 28 °C. O aumento da temperatura para alguns patógenos pode favorecer diretamente o aumento da germinação, porém temperaturas muito elevadas inibem a produção do tubo germinativo (Lorenzetti et al. 2015; Soares et al. 2008). Nas temperaturas mais extremas de 10 °C e de 40 °C, a germinação de *P. vitis* não foi observada, assim como conídios expostos a apenas três horas de molhamento. Maiores valores de germinação ocorreram após as 12 horas de molhamento, indicando assim que com o molhamento da folha mais elevado o patógeno é favorecido para iniciar o processo pré-penetração através do desenvolvimento do tubo germinativo.

Para a mancha da folha da videira, locais com alta umidade relativa são mais favoráveis ao desenvolvimento da epidemia (Sisterna e Ronco, 2005). Neste trabalho, períodos de molhamento a partir de 6 horas, em uma faixa de temperatura de 15 a 35 °C, já apresentaram germinação. Com o aumento do período de molhamento houve um incremento significativo na germinação de conídios de *P. vitis*. Em campo, a combinação desses dois fatores pode levar a uma aumento da doença em um curto período de tempo, como já observada em vários patossistemas, como a *Septoria pyricola*/pêra e *Botryosphaeria dothida*, *Neofusicoccum parvum*, *Neofusicoccum ribis*/goiaba (Nogueira Junior et al. 2016; Chatzidimopoulos e Pappas 2016).

A colonização do patógeno (crescimento da lesão) no hospedeiro pode estar relacionada a influência das temperaturas no crescimento da colônia. O crescimento micelial de *P. vitis* foi lento (3,8 cm de diâmetro) em período de 18 dias na temperatura

de 28 °C (Liang et al. 2016) corroborando os dados obtidos neste presente estudo. As colônias de *P. vitis* cultivadas em BDA, mesmo por períodos de tempo longos (4 meses ou mais) não apresentaram produção de estruturas reprodutivas (conídios), isso ocorre também em outros patógenos que não esporulam facilmente em meio de cultura como *Lasiodiplodia theobromae* e em algumas espécies do gênero *Alternaria* (Maia et al. 2015; Saha et al. 2008; Su et al. 2012). Durante a condução deste trabalho a esporulação do patógeno em meio de cultura V8 não foi abundante, indicando que o mesmo deve ter uma condição bem específica para esporular. Em ensaio com as cultivares, mesmo após 50 dias a 25 °C não se observou esporulação do patógeno. No campo, ao contrário, a esporulação é abundante nos sinênios, os quais são observados em média 30 dias após os sintomas iniciarem.

O processo de colonização do tecido do hospedeiro, através do crescimento de micélio pode ser afetado na ocorrência de temperaturas elevadas ou muito baixas, levando a sua paralização. Outro fator que pode interferir no crescimento micelial fúngico é o regime de luz ao qual ele é submetido. Neste trabalho utilizou-se regime de 12 horas de luz fluorescente e 12 horas de escuro. Em trabalhos realizados com *Corynespora cassicola*, mostraram que isolados de um mesmo hospedeiro podem reagir de maneira diferente ao regime de luz (Teramoto et al. 2013). O regime de luz bem como as alternâncias de temperatura, comuns em campo, podem estar relacionadas a maior ou menor esporulação do patógeno.

O experimento *ex vivo* em discos de folhas inoculados com suspensão de conídios de *P. vitis*, indicou a necessidade de temperaturas elevadas para a ocorrência da doença, como ocorre no verão, no final do ciclo da cultura da videira, onde a doença tem maior expressão no vinhedo (Sisterna e Ronco, 2005). Neste trabalho, a inoculação da suspensão de conídios de *P. vitis* foi realizada na face abaxial da folha e foram observados

os sintomas e a presença dos sinêmios. Testou-se também a inoculação com discos de micélio e suspensão de conídios na face adaxial da folha, mas não foram observados sintomas da doença (dados não mostrados). Entretanto, na literatura, foi encontrado um trabalho com inoculação de folhas destacadas de videira na face adaxial da folha, a qual apresentou sintomas da doença (Liang et al. 2016).

No presente trabalho, os sinêmios se formaram geralmente nas bordas da região onde estava depositada a alíquota da suspensão de conídios. Observou-se as estruturas reprodutivas emergindo abaixo dos tricomas do material foliar, indicando que o patógeno não foi capaz de infectar os tricomas mas, possivelmente colonizou os estômatos, como confirmado por Park et al. (2004). A infecção de *P. vitis* ocorre possivelmente pelos estômatos e cultivares mais suscetíveis podem apresentar maior número destes em relação a cultivares de resistentes a doença (Park et al. 2006).

Assim, o trabalhos futuros seriam desejáveis para verificar a relação entre o número de estômatos e a resistência do cultivares de videira para *P. vitis*.

O menor período de incubação de *P. vitis* (26 dias na cultivar Bordô e de 27 e 28 dias para BRS Violeta e BRS Magna, respectivamente) quando observado nas folhas fisiologicamente maduras, indica que as infecções iniciaram nas folhas mais velhas. Sisterna e Ronco (2005) observaram a ocorrência de sintomas aos 20 dias em mudas de *V. labrusca* inoculadas com *P. vitis*. Liang et al. (2016) verificaram os primeiros sintomas da mancha das folhas a partir do sétimo dia após inoculação de discos de micélio do patógeno sobre folhas destacadas de videira. Park et al. (2006) encontraram sintomas da doença após nove dias, sendo que folhas de plantas inoculadas na face adaxial não apresentaram sintomas. Esta variação em dias para o aparecimento dos sintomas se deve em função das diferentes cultivares avaliadas nestes trabalhos. Assim, como em outros patossistemas, a variação que ocorre no período de incubação implica direta e

indiretamente nas medidas de controle a serem adotadas (Aguiar et al. 2012). O menor período de incubação leva ao desenvolvimento inicial rápido da doença no hospedeiro (Guerra et. al. 2012).

Em plantas, observando-se o progresso temporal da doença após a inoculação nas diferentes cultivares, dentro de um único ciclo do patógeno, houve um crescimento inicial da doença e posteriormente uma estabilização (primeira fase), e em seguida; um novo aumento da severidade (segunda fase). Isto pode ser explicado pelas vias de infecção horária e anti-horária (Bergamim Filho e Amorim 1996). Na primeira fase, pela via horária de infecção, os conídios inoculados germinaram, penetraram e produziram lesões, houve então uma estabilização da severidade média até aproximadamente o 47º dia após a inoculação em todas as cultivares, em seguida, a severidade começou a aumentar novamente. Esta segunda fase pode ser explicada pela via anti-horária de infecção, estratégia desenvolvida por alguns patógenos para superar as condições climáticas adversas, com isso, não ocorre a formação de novas lesões mas sim o crescimento das lesões já existentes (Berger et al. 1997). No caso da *P. vitis*, o progresso da doença pode ser explicado pelas lesões formadas e posteriormente pelo crescimento das lesões existentes. No presente trabalho observou-se que o número de lesões cresce até certo ponto (primeira fase) e depois o que aumenta é o tamanho da lesão (segunda fase) (dados não mostrados). A expansão da lesão é um componente muito importante para epidemias policíclicas, como no caso da mancha da folha da videira, onde com período latente menor a doença se torna mais severa (Berger et. al. 1997)

Apesar de haver diferença entre severidade média para as cultivares avaliadas nas diferentes fases, considerou-se a AACPD total como critério de diferenciação mais seguro para classificar a resistência das diferentes cultivares à mancha da folha da videira. Considerando AACPD total, as cultivares mais resistentes foram: Concord, Isabel

precoce, BRS Carmem, BRS Cora, BRS Magna e BRS Vitória. Na análise de risco foi observada que as cultivares mais resistentes têm menor risco comparado com o padrão suscetível escolhido ('Bordô' ou 'BRS Violeta'). Para as *V. labrusca*, apenas a 'Niagara rosada' foi semelhante a cultivar padrão Bordô, as demais apresentaram um fator de proteção, que exemplifica quantas vezes cada cultivar tem menos chance de expressar sintomas, sendo 'Concord' a expressar a menor chance de apresentar sintomas (0,469 vezes). Para as híbridas, todas as cultivares apresentaram o fator de proteção, diferenciando da cultivar padrão BRS Violeta, tendo BRS Vitória 0,044 vezes menos chances de expressar sintomas que a 'BRS Violeta'. Esses resultados de análise de risco e da AACPD indicam que as cultivares Concord e BRS Vitória apresentam uma maior resistência a expressão dos sintomas da mancha da folha. 'Concord' é uma *V. labrusca* altamente rústica, indicada para regiões com período de repouso definido e muitas vezes dispensando o uso de fungicidas. A Embrapa Uva e Vinho vem trabalhando em seleções clonais da cultivar 'Concord' em diferentes regiões da Serra Gaúcha (RS) (Borges et. al. 2014). 'BRS Vitória' é uma cultivar sem semente e classificada quanto a algumas doenças foliares, como resistente a míldio (*Plasmopora viticola*) e susceptível a ferrugem (*Phakopsora euvtitis*) e a antracnose (*Elsinoe ampelina*).

Identificar as fontes de risco para a ocorrência de uma epidemia é de extrema importância para a implementação de sistemas de gestão eficazes para vários patossistemas (Ojiambo et al. 2017). No caso da mancha da videira, conhecer as condições favoráveis para o monociclo do patógeno e o progresso temporal da doença nas diferentes videiras cultivares cultivadas no Brasil, é possível definir medidas que ajudam a controlar a epidemia. Estas medidas podem ser utilizadas pelos viticultores para diminuir o inóculo inicial, que levaria à redução de doenças e favoreceria a escolha de

cultivares que apresentam menores níveis de severidade da doença mesmo em condições favoráveis para a epidemia.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Federal Universidade do Paraná (UFPR), bem como à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por seu apoio e provisão de recursos necessários para nossa pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Aguiar RL, Scaloppi EMT, Goes A, Spósito MB (2012) Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em diferentes estádios fenológicos de frutos de laranja 'Valência'. *Tropical Plant Pathology* 37(2):155-158.
- Amorim L, Spósito MB, Kuniyuki H (2016) Doenças da videira. In: Amorim, L. (5ª ed.). *Manual de Fitopatologia doença de plantas cultivadas*, p.p 752., L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamim Filho, L. E. A. Camargo, Minas Gerais, Brazil.
- Anônimos (2011) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 46, de 6 de Outubro de 2011. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. *Diário Oficial da União*, 7 de Outubro de 2011. Brasília, DF, Brasil.
- Atak A, Akkurt M, Polat Z, Celik H, Kahraman KA, Akgul DS, Ozer N, Soylemesoglu G, Sire G, Eibach R (2017) Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) of vitis cultivars and genotypes. *Ciência e Técnica Vitivinícola* 32(1):23-32.
- Bakhshi M, Arzanlou M, Babai-Ahari A, Groenewald JZ, Crous PW (2014) Multi-gene analysis of *Pseudocercospora* spp. from Iran. *Phyotaxa* 184(5):245–264.
- Barros LB, Biasi LA, Carisse O, May De Mio LL (2018) The influence of table grape rootstock and cultivar combinations on susceptibility to downy mildew. *Australasian Plant Pathology* 47:171–179.
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamim Filho A, Hau B (1998) Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of Phaseolus bean at different temperatures. *Plant Pathology* 47:289–298.
- Bergamim Filho A, Amorim L (1996) Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. *Ceres*, p.129-150. São Paulo, Brazil.
- Berger R.D., Bergamin Filho A., Amorim L. 1997. Lesion expansion as an epidemic component. *Epidemiology* 87 (10).

- Borges RS, Roberto SR, Yamashita F, Assis AM, Yamamotoi LY (2014) Produção e qualidade de frutos de clones de videira ‘Concord’ sobre diferentes porta-enxertos. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 44(2):198-204.
- Carvalho MS, Andreozzi VL, Codeço CT, Campos DP, Barbosa MTS, Shimakura SE (2011) *Análise de Sobrevivência: teoria e aplicações em saúde*. 2a ed. Rio de Janeiro, FIOCRUZ. 432p
- Chatzidimopoulos M, Pappas AC (2016) Epidemiology and control of *Septoria pyricola* in pear leaf and fruit. *Journal of Plant Pathology* 98: 447-452.
- Gerra DS, Nickel O, Del Ponte EM, Sanhuesa RMV, Fajardo TVM, Marodin GAB (2012) Development of Glomerella leaf spot is enhanced in virus-infected maxi gala apples. *Journal of Plant Pathology* 94:237-241.
- Lenz G, Costa IN, Balardin RS, Marques LN, Arruél A, Stefanelo MS, Zemolin CR (2009) Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de Isariopsis da videira. *Ciência Rural* 39:2301-2308.
- Liang C, Jayawardena RS, Zhang W, Wang X, Liu M, Liu L, Zang C, Xu X, Hyde KD, Yan J, Li X, Zhao K (2016) Identification and characterization of *Pseudocercospora* species causing grapevine leaf spot in China. *Journal of Phytopathology* 164:75-85.
- Lorenzetti ER, Pozza EA, Souza PE, Santos LA, Alves E, Silva AC, Gonçalves F, Maia M, Carvalho RRC (2015) Effect of temperature and leaf wetness on *Phoma tarda* and phoma leaf spot in coffee seedlings. *Coffee Science* 10:1- 9.
- Maia AJ, Schwan-Estrada KF., Faria CMR, Santos LA, Oliveira JBS, Santos RC (2015) Produção de esporos e efeito da temperatura e luminosidade sobre germinação e infecção de *Pseudocercospora vitis* em videira. *Summa Phytopathologica* 41:287-291.
- Nogueira Jr AF, Fischer IH, Bragança CAD, Massola Jr NSM, Amorim L (2016) Identification of *Botryosphaeriaceae* species that cause stilar-end rot of guavas and characterisation of the disease monocycle. *European Journal of Plant Pathology* 144:271-287.
- Ojiambo PS, Yuen J, Van den Bosch F, Madden LV (2017) Epidemiology: past, present, and future impacts on understanding disease dynamics and improving plant disease management - a summary of focus issue articles. *Phytopathology* 107:1092-1094.
- Park J, Han K, Lee J, Seo S, Jang H, Kim H (2004) Occurrence tendency and decrease of fruits brix according to increasing grapevine leaf spot disease caused by *Pseudocercospora vitis*. *Research in Plant Disease* 10:341-344.
- Park J, Kyeong-Suk H, Lee J, Seo S, Jang H, Kim H (2006) Pathogenicity and infection mechanism of *Pseudocercospora vitis* causing leaf spot disease on grapevine in Korea. *Research in Plant Disease* 12:15-19.
- Park S, Kim S, Woo J, Choi S, Park S (2014) Control of grapevine leaf spot caused by *Pseudocercospora vitis* with application of bicarbonate. *Fruit Growing Research* 30:53-57.

R Development Core Team (2015) R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso 10 de maio de 2017

Saha A, Mandal P, Dasgupta S, Saha D (2008) Influence of culture media and environmental factors on mycelial growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. *Journal of Environmental Biology* 29:407-410.

Shaner G, Finner RE (1997) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-milewring resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.

Sisterna M, Ronco L (2005) Occurrence of grapevine leaf spot caused by *Pseudocercospora vitis* in Argentina. *Plant Pathology* 54: 247-247.

Soares AR, Silvia AL, Amorim L (2008) Infecção de goibas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. *Tropical Plant Pathology* 33:265-272.

Su Y, Qi Y, Cai L (2012) Induction of sporulation in plant pathogenic fungi. *Mycology* 33:195-200.

Teramoto A, Parisi MCM, Cunha MG (2013) Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology* 38:313-322.

Therneau T. (2012) A Package for Survival Analysis in S. R package version 2:36-12. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=survival>. Accessed 10 de maio de 2017

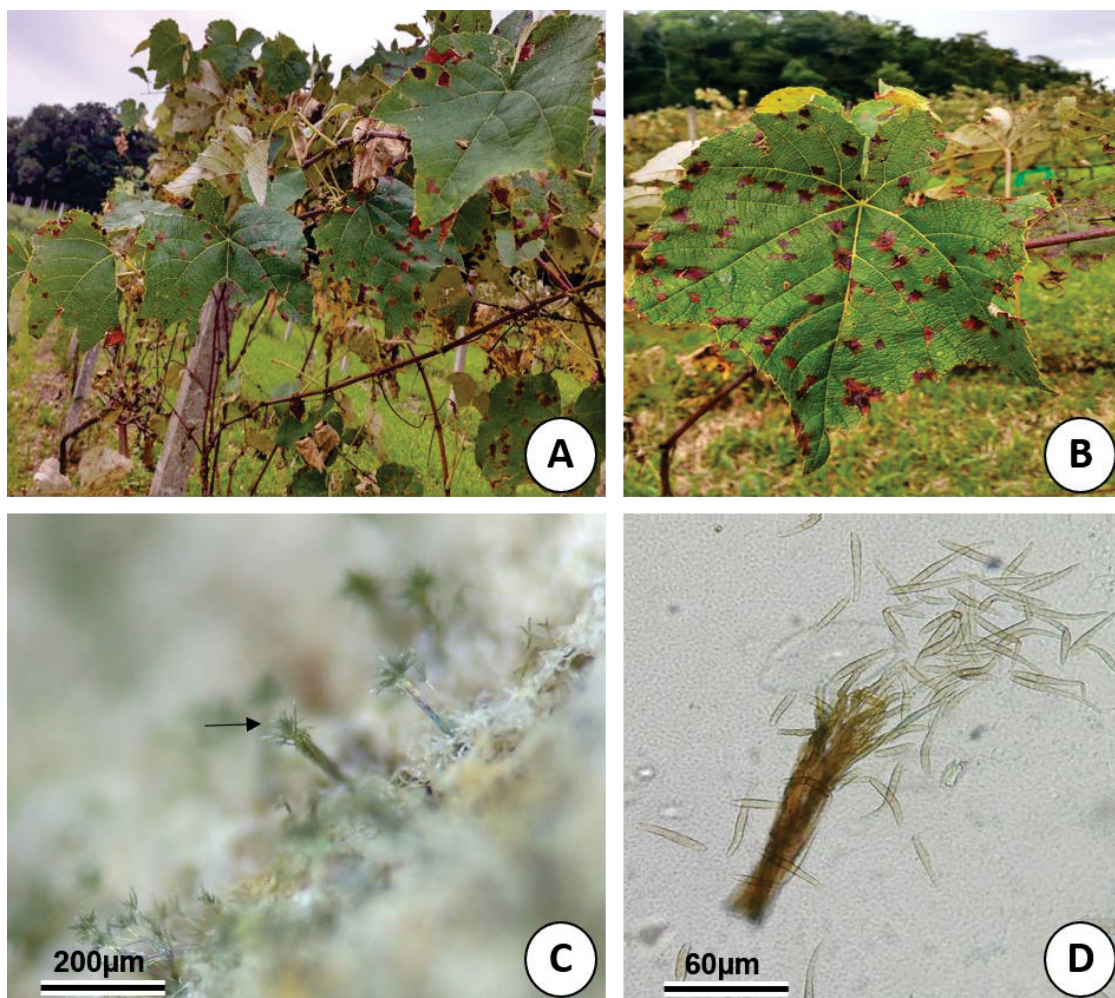


Figura 1. A e B, Mancha das folhas em *Vitis labrusca*, cultivar 'Bordô', no campo. C, estruturas reprodutivas do fungo, sinêmio onde os conídios são produzidos, observados sob um microscópio óptico em folhas de videira. D, Conidióforo com conídios agrupados em sinêmio observado sob um microscópio de luz. Barras de escala 200 μm (C) e 60 μm (D).

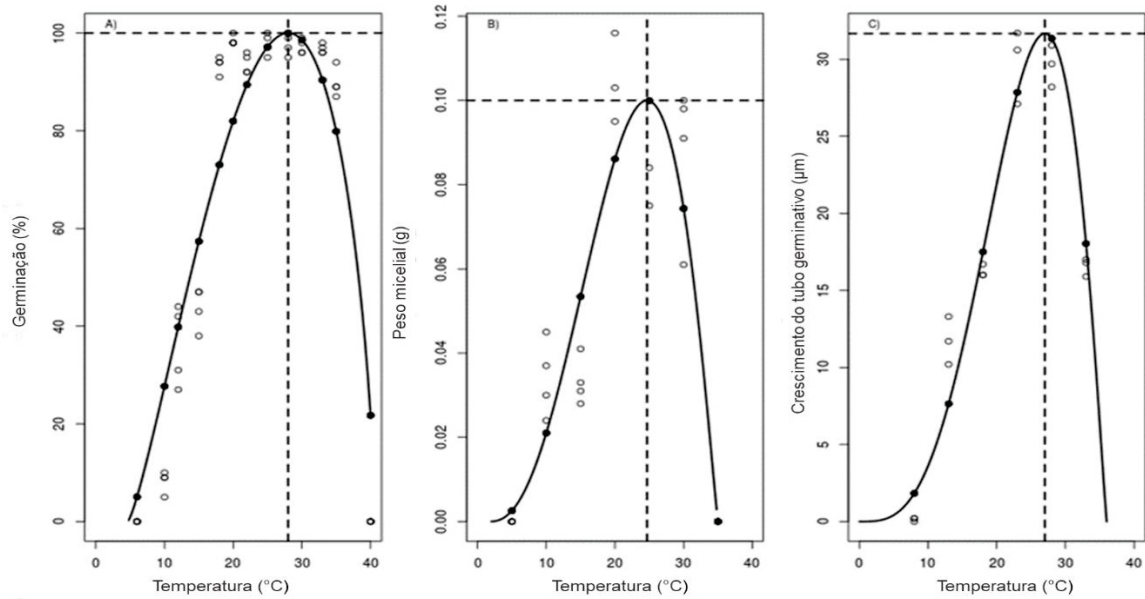


Figura 2. **A-** Germinação de conídios (%), **B-** peso micelial (g) (14 dias de idade) e **C-** tamanho de tubo germinativo de *Pseudocercospora vitis*. Linha cheia corresponde à função Beta generalizada ($Y = Y_{ótima} \left(\frac{T - T_{mín}}{T_{ótima} - T_{mín}} \right)^{b_1} * ou \left(\frac{T_{ótima} - T_{mín}}{T_{máx} - T_{ótima}} \right) * \left(\frac{T_{máx} - T}{T_{máx} - T_{ótima}} \right)^{b_1}$) ajustada aos dados, em que $T_{mín}$ = temperatura mínima, $T_{ótima}$ = temperatura ótima, $T_{máx}$ = temperatura máxima, $Y_{máx}$ = germinação (%) ou peso micelial (g) máximo ou comprimento máximo do tubo germinativo, T = temperatura e b_1 = é um parâmetro do modelo, sem interpretação biológica). Para germinação $Y_{máx}$ foi fixado em 100%, e para peso micelial e tamanho do tubo germinativo o $Y_{máx}$ foi estimado pelo modelo.

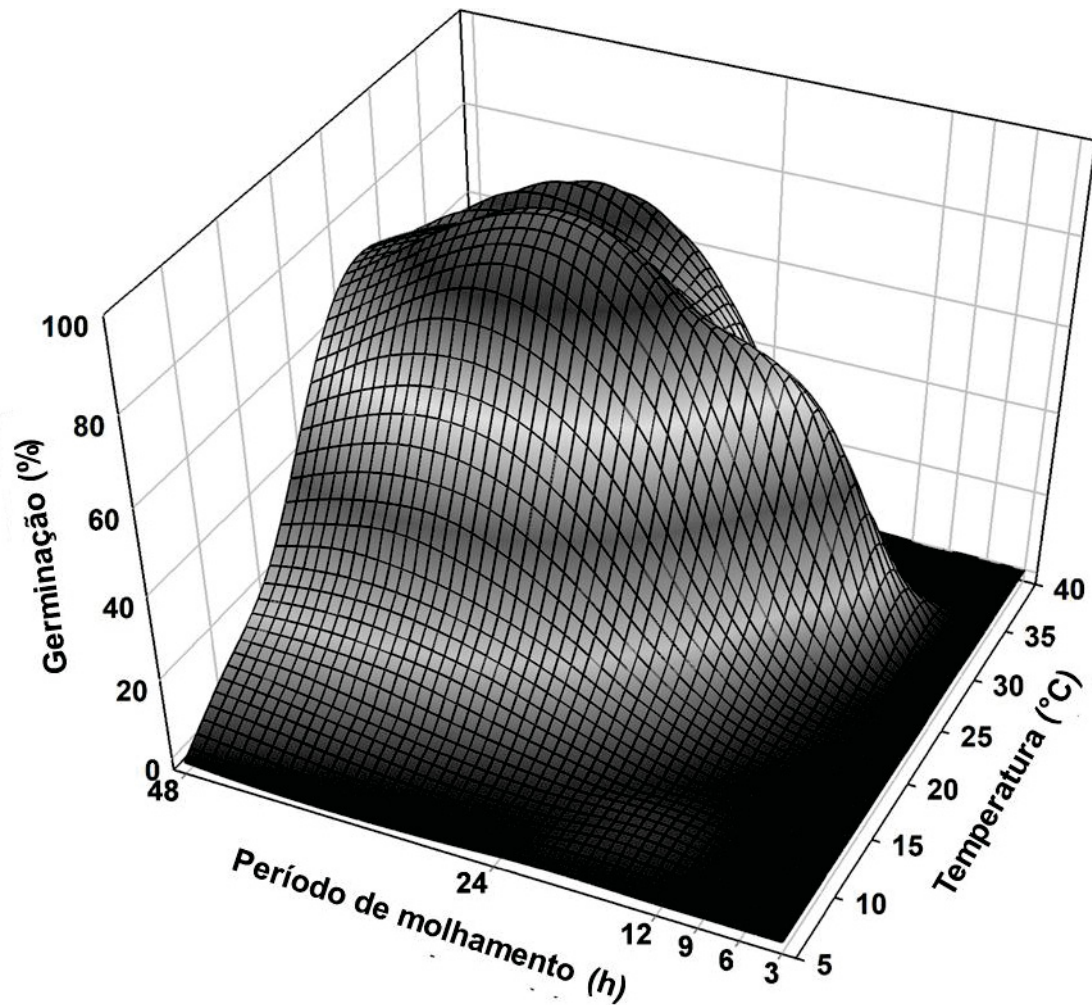


Figura 3. Superfície resposta da germinação de *Pseudocercospora vitis* em função da temperatura e período de molhamento, descrita pelo modelo Polinomial ($Y = b_1 + T * PM + T^2 + PM^2 + T * PM$, em que $Y =$ germinação (%), $b_1 =$ intercepto, sem explicação biológica, $T =$ temperatura e $PM =$ período de molhamento). A temperatura ótima de 29,6 °C estimada pelo modelo relacionada ao período de molhamento ótimo de 45,5 horas.

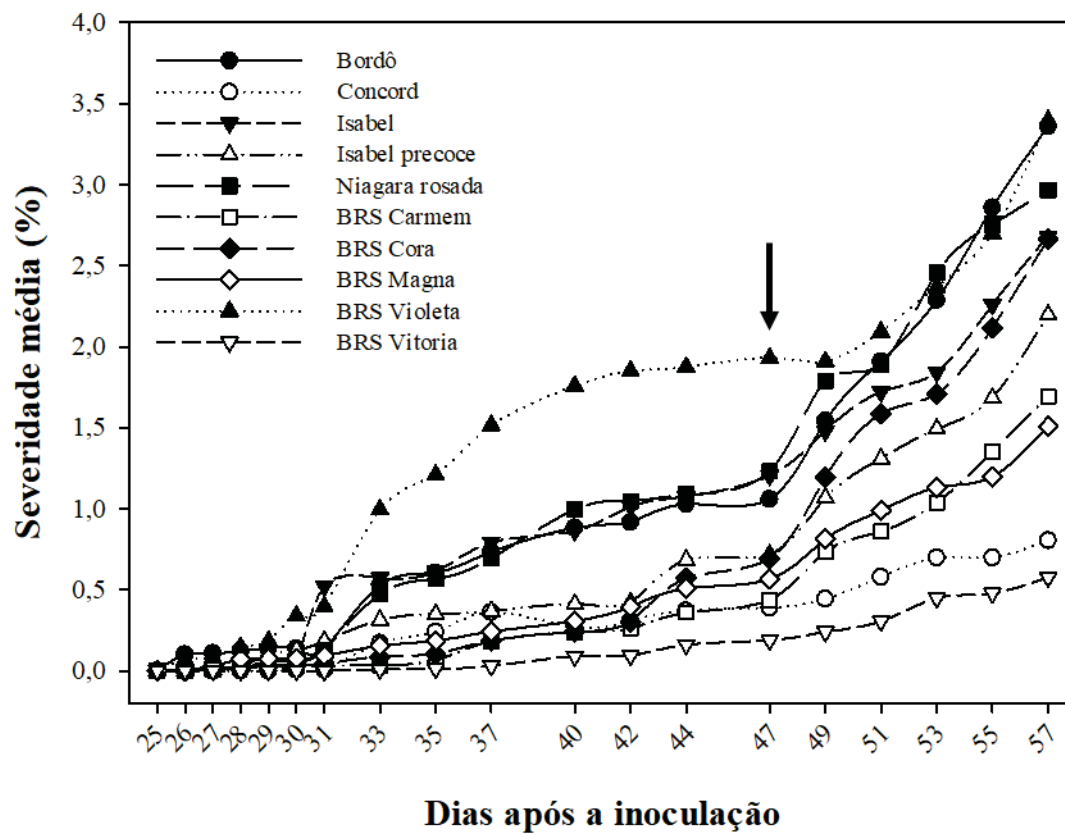


Figura 4. Curva de progresso da severidade média em mudas de videira avaliadas ao longo do tempo em resposta a infecção de *Pseudocercospora vitis*. Seta indica o tempo de avaliação até a estabilização da doença (47 dias após a inoculação).

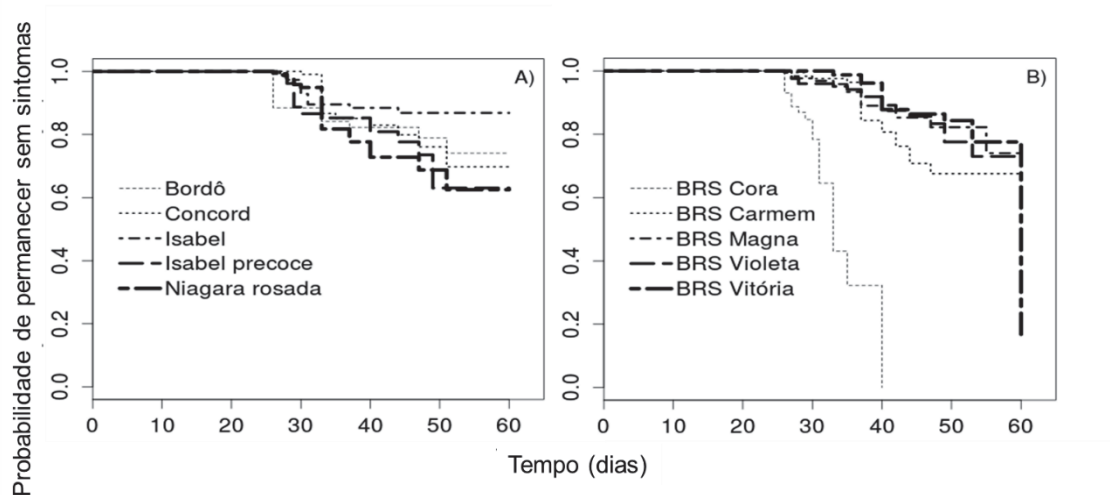


Figura 5. Estimativa das curvas de Kaplan-Meier pela análise de sobrevivência, descrevendo a probabilidade ao longo do tempo da planta se manter sem a ocorrência dos sintomas de *Pseudocercospora vitis* em diferentes cultivares de *Vitis labrusca* (A) e híbridas (B) inoculadas com *P.vitis*.

Tabela 1. Temperatura mínima, máxima e ótima para germinação de conídios, para peso micelial e crescimento do tubo germinativo de *Pseudocercospora vitis*.

Variável	Temperatura (°C)		
	Mínimo	Ótimo	Máximo
Germinação	4,67 (0,74; 8,59)	28,00 (26,55; 29,45)	40,67 (39,49; 41,84)
Peso micelial	1,00 (- ; -)	24,67 (22,89; 26,44)	35,33 (33,71; 36,96)
Tubo germinativo	0,00 (- ; -)	27,00 (24,54; 29,46)	36,00 (24,85; 47,15)

Tabela 2. Período de incubação e latência (dias) de mancha das folhas da videira, causada por *Pseudocercospora vitis* inoculada sobre discos de folhas de videira das cultivares Bordô e Isabel precoce submetidas a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Período de incubação (dias)		Período de latência (dias)	
	‘Bordô’	‘Isabel precoce’	‘Bordô’	‘Isabel precoce’
10	-	-	-	-
15	-	-	-	-
20	40	39	42	40
25	27	23	29	25
30	36	35	39	38
35	-	-	-	-

- sem presença de sintoma/sinal (sinêmio) durante a avaliação. Avaliação realizada em 9 discos de folha de videira para cada cultivar de videira em cada temperatura testada por período de 42 dias.

Tabela 3. Período de incubação (dias após a inoculação – DAI), severidade média e AACPD (Área Abaixo da Curva de progresso da Doença) da mancha das folhas da videira, causada por *Pseudocercospora vitis* nas diferentes temperaturas em folhas de mudas de 10 cultivares de videira.

Cultivar	Período de incubação (dias)		Severidade média ¹		AACPD*	AACPD**	AACPD***
	Folha nova	Folha velha	(47 DAI)	(57 DAI)			
Bordô	51	26	1,05 a	3,25 a	13,30 b	21,30 a	34,50 a
Concord	51	33	0,30 b	0,75 b	3,30 c	4,50 b	7,80 b
Isabel	30	31	1,20 a	2,75 a	14,00 b	18,30 a	32,30 a
Isabel precoce	30	29	0,71 b	2,25 a	7,80 c	14,00 a	21,80 b
Niágara rosada	37	30	1,25 a	3,00 a	13,30 b	22,00 a	35,30 a
BRS Carmem	47	35	0,43 b	1,50 b	3,50 c	10,30 b	13,80 b
BRS Cora	42	37	0,69 b	2,75 a	4,80 c	16,80 a	21,50 b
BRS Magna	40	28	0,56 b	1,50 b	5,00 c	10,50 b	15,50 b
BRS Violeta	33	27	2,00 a	3,50 a	25,50 a	23,30 a	48,80 a
BRS Vitoria	40	40	0,20 b	0,50 b	1,00 c	3,80 b	4,80 b

¹Médias seguidas de letras distintas diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. AACPD*- intervalo de tempo entre a inoculação e a estabilização da severidade da doença (47 DAI). AACPD* *- intervalo de tempo entre a estabilização da severidade da doença (47 DAI) até os 57 DAI. AACPD*** - intervalo de tempo entre a inoculação e 57 DAI.

Tabela 4. Estimativas de risco relativo para a expressão de sintomas de *Pseudocercospora vitis* estimadas pelo modelo semi-paramétrico Cox, seguidas dos intervalos de confiança de 95% as cultivares *Vitis labrusca* e seus híbridos.

- não se aplica.

Covariante (Cultivar)	Estimativa do parâmetro		
	Risco relativo	IC (95%)	
		LI	LS
Bordô	-	-	-
<i>Vitis</i> Concord	0,329*	0,165	0,665
<i>labrusca</i> Isabel	0,469*	0,239	0,919
Isabel precoce	0,520*	0,279	0,989
Niágara rosada	0,597 ^{ns}	0,313	1,140
BRS Violeta	-	-	-
BRS Carmem	0,054 *	0,026	0,114
Híbrida BRS Cora	0,077 *	0,386	0,154
BRS Magna	0,057 *	0,027	0,116
BRS Vitória	0,044 *	0,021	0,088

LI e LS correspondem aos limites inferior e superior do intervalo de confiança para o risco relativo. IC – Intervalo de confiança de 95%.

CAPÍTULO II - ALTERNATIVAS DE CONTROLE DA MANCHA DAS FOLHAS DA VIDEIRA PARA SISTEMAS DE PRODUÇÃO ORGÂNICOS

Eliane Aparecida ROGOVSKI-CZAJA^a, Luis Guilherme Rover VIRMOND^a, Cristiano Nunes NESI^b, Henrique da Silva Silveira DUARTE^a, Louise Larissa MAY DE MIO^a

^aUniversidade Federal do Paraná, 1540 Juvevê, Curitiba, Paraná, Brasil.

^bEpagri – Centro de Pesquisa para a Agricultura Familiar: Servidão Ferdinando Tusset/sn, São Cristóvão, Chapecó, SC, Brasil.

Autor para correspondência: L. L. May De Mio

UFPR – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba, PR, Brasil.

E-mail: maydemio@ufpr.br

RESUMO

A Mancha das Folhas da Videira (MFV), causada pelo fungo *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg. tem preocupado os produtores de uva devido a ocorrência da desfolha precoce nas plantas. Os fungicidas à base de cobre têm sido amplamente utilizados contra as doenças da videira (*Vitis* sp. L.), principalmente na produção orgânica, mas também na viticultura convencional, no entanto, seu uso intensivo aumentou as preocupações quanto à fitotoxicidade. Dessa forma, no intuito de desenvolver novas alternativas para controle da MFV, este trabalho teve como objetivo testar a eficiência de produtos alternativos no controle da MFV e determinar a concentração efetiva (EC50) dos tratamentos testados à campo, para a inibição de 50% da germinação e peso micelial. Os tratamentos foram: i) acetato de eugenila; ii) produto tecnológico ‘PTCV’; iii) fungicida microbiológico Serenade[®]; iv) Serenade[®] mais melado de cana a 1%; v) Serenade[®] mais melado de cana a 2%; vi) calda bordalesa; vii) testemunha com água, e viii) testemunha sem aplicação. Na safra 2017/2018, o tratamento água foi substituído por ix) acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio. Os produtos foram aplicados em duas safras consecutivas (2016/17 e 2017/18) em pomares com condições climáticas

favoráveis ao desenvolvimento da MFV, apresentando alto potencial de inóculo primário. A eficácia do controle foi contabilizada avaliando-se o progresso temporal da MFV, na cultivar Bordô. A severidade de MFV na testemunha apresentou padrão logístico em ambos os ciclos produtivos, alcançando valores médios de severidade de 23% e 35% nas safras 2016/2017 e 2017/2018, respectivamente. Os produtos: PTCV, acetato de eugenila, calda bordalesa e Serenade® acrescido de melado de cana a 1% diferiram estatisticamente da testemunha pela área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) na safra 2016/2017. Na safra 2017/2018, os tratamentos a base de Serenade® foram semelhantes a testemunha pela AACPS. Para a severidade média aos 42 dias de avaliação, os tratamentos acetato de eugenila e PTCV apresentaram menores valores de severidade na safra 2016/2017. Na segunda safra o tratamento a base de acetato de eugenila e a calda bordalesa diferiram da testemunha. Acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio apresentou a menor EC50. Com base nos resultados obtidos neste trabalho, os produtos acetato de eugenila aplicado individualmente ou acrescido de bicarbonato de potássio e o PTCV podem ser considerados promissores para o controle da MFV à campo.

Palavras-chave: Controle alternativo; Cultivo orgânico; Pressão de inóculo; Severidade; *Vitis labrusca*.

ABSTRACT

Grapevine leaf spot disease (GLS) caused by the fungus *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg. has worried grape producers due to the occurrence of early defoliation in plants. Copper-based fungicides have been widely used against vine diseases (*Vitis* sp. L.), mainly in organic production, but also in conventional viticulture; however, their intensive use has raised concerns about phytotoxicity. Thus, in order to develop new alternatives for GLS control, this work aimed to test the efficiency of alternative products in the GLS control and to determine the effective concentration (EC50) of the treatments tested in the field, to inhibit 50% of the germination and mycelial weight. The treatments were: i) eugenyl acetate; ii) 'PTCV' technology product; iii) Serenade® microbiological fungicide; iv) Serenade® plus 1% cane syrup; v) Serenade® plus 2% cane syrup; (vi) Bordeaux mixture; vii) control treatment with water, and viii) control treatment without application. In the 2017/2018 harvest, the water treatment was replaced to ix) eugenyl

acetate plus potassium bicarbonate. The products were applied in two consecutive harvests (2016/17 and 2017/18) in orchards with climatic conditions favorable to the GLS development, presenting high primary inoculum potential. The control efficiency was performed by evaluating the GLS temporal progress in the ‘Bordô’ cultivar. GLS severity in the control treatment presented a logistic pattern in both productive cycles, reaching severity mean values of 23% and 35% in the 2016/2017 and 2017/2018 harvests, respectively. The products: PTCV, eugenyl acetate, Bordeaux mixture and Serenade® plus 1% cane syrup differed statistically from the control group, by the area under the severity progress curve (AUSPC) in the 2016/2017 harvest. In the 2017/2018 harvest, Serenade-based treatments were similar to control treatment by AUSPC. For the mean severity at 42 days of evaluation, eugenil acetate and PTCV presented lower severity values in the 2016/2017 harvest. In the second harvest, eugenil acetate and Bordeaux mixture differed from the control treatment. Eugenyl acetate plus potassium bicarbonate showed the lowest EC50. Based on the results obtained in this work, eugenyl acetate applied individually or added with potassium bicarbonate and PTCV can be considered a promising alternative for GLS control in the field.

Key-words: Severity; Bordeaux mixture; *Vitis labrusca*; Inoculum pressure; Organic cultivation.

1. INTRODUÇÃO

A Mancha das Folhas da Videira (MFV) é considerada uma doença importante no final do ciclo da cultura e que acarreta a queda antecipada das folhas. O agente casual é o fungo *Mycosphaerella personata* Higgins, fase anamórfica *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg, sinonímia de *Isariopsis clavispora* (Berk Curtis) Sacc.

A queda prematura das folhas da videira, pode levar a redução do acúmulo de carboidratos nos ramos e gemas prejudicando a produção da próxima safra, assim como ocorre em algumas frutíferas (Alves et al., 2008; Liang et al., 2016; Ryu et al., 2016). A aplicação de fungicidas é a principal estratégia para o controle de epidemias da MFV em todas as regiões produtoras uva no Brasil. Em cultivos convencionais, emprega-se o uso

repetitivo de fungicidas sintéticos e em vinhedos em sistemas orgânicos, ocorre o emprego da aplicação de cúpricos. O principal fungicida sintético muito utilizado nos vinhedos em sistema convencional para controle da MFV, é o formulado a base de mancozebe. Para cultivos em sistema orgânico, o principal cúprico aplicado a calda bordalesa. O fungicida cúprico tem sido utilizado desde o século XIX para o controle de doenças de plantas, sendo permitido na agricultura orgânica, mas também aplicado na viticultura convencional, no entanto, seu uso intensivo aumentou as preocupações quanto à fitotoxicidade (Martins et al., 2014) como já observado por Ferreira (2012), onde as folhas ficam com coloração amarronzada e podem ocorrer lesões em decorrência da presença do produto. Durante a preparação da calda bordalesa, a reação do hidróxido de cálcio com o sulfato de cobre resulta na formação de uma suspensão azul coloidal de hidróxido de cobre, praticamente insolúvel em água, estabilizada pela adsorção do sulfato de cálcio. Na forma fixa ou complexada, o cobre não é absorvido pelo tecido da planta, o que reduz o risco de fitotoxicidade da calda bordalesa e com isso aumenta a utilidade do sulfato de cobre na agricultura (Lamichhane et al., 2018). A aplicação de fungicida foliar em videiras aumenta o teor de metais pesados como o cobre (Cu) em solos de vinhedos podendo atingir níveis fitotóxicos (Ambrosini et al., 2015).

Na literatura há relatos do uso de controle alternativos para diferentes doenças em videira com uso de extratos de plantas (Leite et al., 2012) e óleos essenciais (Ammad et al., 2018; Maia et al., 2014). O uso de biofungicidas no controle de doenças em diferentes culturas tem se mostrado promissor (Lahlali et al., 2013; Moreira et al., 2014; Moreira et al., 2015; Yáñez-Mendizábal e Falconi, 2018). Resultados obtidos nesses trabalhos mostram a ação do produto controlando a doença através do seu efeito sobre o patógeno, interferindo sobre fases da interação patógeno/hospedeiro, como a germinação do esporo e a colonização do tecido do hospedeiro.

Na busca de novas opções de controle, o objetivo deste trabalho foi avaliar o progresso temporal da MFV em uvas rústicas *Vitis labrusca*, cultivar Bordô, utilizando produtos alternativos no controle desta doença. Para melhor entendimento do efeito dos produtos sobre a MFV, os experimentos foram realizados em dois ciclos consecutivos e sob alta pressão de inóculo primário.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Teste à campo

2.1.1 Aspectos gerais

O experimento foi realizado em um vinhedo experimental com a cv. Bordô, sob sistema de cultivo orgânico, durante dois ciclos consecutivos de produção, em 2016 (dezembro/ fevereiro) e 2017 (dezembro/ fevereiro). As videiras, plantadas em 2008, foram enxertadas em porta-enxerto “Paulsen 1103”, com espaçamento entre plantas de 2,5m, em área declivosa com linhas dispostas em patamares, sendo conduzidas em cordão esporonado, espaldeira de três fios. O vinhedo se localiza na Estação Experimental do Canguiri, Universidade Federal do Paraná, município de Pinhais, Paraná, Região Sul do Brasil (25°23'18 S, 49°07'59 W) a uma altitude de 933 m. O clima é Cfb (temperado, com verão ameno) segundo a classificação de Koppen (SIMEPAR, 2018).

Para auxílio no entendimento da doença foram coletados dados climáticos mensais do município de Pinhais nos períodos dos experimentos. Estes dados foram cedidos pelo Instituto Tecnológico SIMEPAR (Sistema Meteorológico do Estado do Paraná). Foram calculadas as médias mensais de temperatura e a precipitação total mensal, a partir dos valores diários de precipitação de cada mês.

2.1.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi conduzido em blocos ao acaso, com oito tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela constituída de uma planta contendo dois ramos marcados. O número de plantas por tratamento foi definido em função da homogeneidade da área experimental, considerando como parcelas plantas vigorosas e que já apresentavam alguns ramos com seis ou mais folhas adultas e saudas. Para testar a eficiência dos tratamentos em função da pressão de inóculo da área, a aplicação dos produtos foi realizada apenas nas folhas dos dois ramos marcados ao invés da planta inteira. Em cada ramo foram marcadas cinco folhas consecutivas. As folhas foram selecionadas três dias antes da aplicação dos tratamentos e não apresentavam sintomas visíveis da MFV no momento da marcação.

Os tratamentos foram aplicados em intervalos semanais na primeira safra (início em 23 de dezembro de 2016) totalizando sete aplicações e quinzenais (início em 14 de dezembro de 2017) na segunda safra, totalizando seis aplicações. A pulverização foi realizada durante as horas mais frias do dia, até às 10h ou após às 16h. Utilizou-se pulverizador manual Multisprayer Guarany®, direcionando a aplicação dos tratamentos para as folhas de cada ramo até o ponto de escoamento superficial em ambos os lados da folha (abaxial e adaxial).

Os tratamentos na safra 2016/2017 foram: 1 - testemunha, sem aplicação de produto; 2 – aplicação de água destilada, base das diluições dos demais tratamentos; 3 - acetato de eugenila, derivado do composto natural eugenol, na concentração 0,1%; 4 - produto tecnológico denominado PTCV, à base de extrato vegetal; 5 - mistura pronta de calda bordalesa (Bordasul®), preparada na concentração recomendada de 0,3% m/v (massa/volume), 6 - biofungicida bactericida microbiológico Serenade® (Bayer S.A.) composto pela bactéria gram-positiva *Bacillus subtilis* linhagem QST 713 13,68 g L⁻¹,

preparado na concentração 0,2 % (2 litros do composto por 1.000 litros de volume de calda); 7 - Serenade® acrescido de substrato açucarado – melado de cana comercial DaColonia® nas concentração a 1,0 % e 8 - Serenade® mais melado de cana comercial DaColonia® nas concentração de 2,0 %. Os tratamentos 3 e 4 foram desenvolvidos no Laboratório de Ecologia Química e Síntese de Produtos Naturais, Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná

Na segunda safra, 2017/2018, retirou-se o tratamento com água por não apresentar diferença significativa da severidade em relação a testemunha, substituindo pelo acetato de eugenila (0,1%) acrescido de bicarbonato de potássio (KHCO_3) (750 mg L^{-1}) como forma de verificar se ocorre uma potencialização da eficiência de controle do acetato de eugenila com a adição do bicarbonato de potássio no controle da doença (Tabela 1). As aplicações foram realizadas nas mesmas datas das avaliações.

2.1.3 Avaliações à campo

O número de folhas com sintomas de MFV em relação ao total (incidência) e o percentual de tecido foliar lesionado (severidade) foram avaliados a partir da primeira pulverização, nas duas safras, seguindo intervalos semanais na primeira safra e quinzenais na segunda safra. A quantificação da severidade foi realizada em cada folha do ramo, utilizando-se a escala diagramática proposta por Lenz et al. (2009), com valores de severidade variando entre 1,6 e 40,20%.

A partir dos dados de severidade, calculou-se a Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade (AACPS), por integração trapezoidal (Shaner e Finney, 1977), considerando desde a primeira até a última aplicação de cada safra. O efeito dos tratamentos sobre a AACPS da severidade foi verificado pela análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%). Aos dados do progresso temporal da severidade, de cada tratamento, foram ajustados os modelos:

1- Linear Simples

$$y=b_1+b_2t$$

2- Exponencial

$$y= y_0exp^{rt}$$

3- Logístico

$$y=1/(1+((1/y_0)-1)exp^{-rt})$$

em que: b_1 é o intercepto (y_0); b_2 é o coeficiente angular (r); y é a severidade observada no tempo t ; y_0 é a estimativa do inóculo inicial da doença e r é a taxa de incremento da doença para cada modelo.

A qualidade do ajuste dos modelos foi verificada pelo coeficiente de determinação entre os valores observados e os preditos (R^{*2}), pelo erro padrão residual e pelo Critério de Informação de Akaike (AIC) para a seleção do modelo mais adequado para representar a epidemia. As estimativas dos parâmetros do modelo escolhido foram comparadas, entre os tratamentos, pelo intervalo de confiança. O efeito dos tratamentos considerando a severidade média aos 42 dias de avaliação, tempo decorrido em que ainda não havia ocorrido queda de folhas, e sobre a porcentagem de desfolha foi verificado pela análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%).

2.2 Teste *in vitro*

Para entendimento da ação dos produtos alternativos aplicados à campo no controle da MFV, foram realizados experimentos em laboratório verificando a influência de diferentes concentrações dos produtos aplicados na safra 2017/2018 sobre a germinação e o peso micelial de *P. vitis*.

Os tratamentos foram: 1 - acetato de eugenila 0,1%; 2 - acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio (750 mg L^{-1}); 3 - produto tecnológico denominado

PTCV à base de extrato vegetal; 4 - mistura pronta de calda bordalesa (Bordasul®), preparada na concentração recomendada de 0,3% m/v (massa/volume), 5 - o biofungicida bactericida microbiológico Serenade®, bactéria gram-positiva *Bacillus subtilis* linhagem QST 713 3,68 g L⁻¹ a 0,2 %; 6 - Serenade® 0,2 % acrescido de melado de cana comercial DaColonia® na concentração de 1,0 % e 7 - Serenade® 0,2 % mais melado de cana comercial DaColonia® na concentração de de 2,0 % (Tabela 1).

2.2.1 Inibição da germinação de conídios de *Pseudocercospora vitis* em função das concentrações dos controles alternativos

A germinação de conídios de *P. vitis* foi avaliada nas concentrações: 5, 10, 50, 100 e 1000 µg L⁻¹ dos tratamentos. O teste foi feito no escuro, sendo quatro placas de Petri contendo meio de cultura ágar água (AA) para cada concentração.

Os produtos foram dissolvidos em água estéril, ajustado para 10 µg ia mL⁻¹ e incorporado em meio AA 2% para produzir concentrações entre 5 a 100 µg L⁻¹. Os produtos testados foram adicionados ao meio AA autoclavado arrefecido a 45 °C. Conídios de *P. vitis* foram obtidos de folhas de videira com sintomas da mancha das folhas da videira coletadas em área sem aplicação de controle fitossanitário, e usadas para a produção de suspensões de esporos. Aliquotas de 100 µL de suspensão fúngica de *P.vitis*, ajustada com auxílio da câmara de Neubauer, na concentração 3 x 10⁴ conídios mL⁻¹, foram espalhadas nas placas contendo os diferentes tratamentos. A testemunha constitui-se apenas de meio AA acrescido de 100 µL da suspensão fúngica na concentração 3 x 10⁴ conídios mL⁻¹. Posteriormente, as placas de Petri foram armazenadas em condições controladas a 25 °C, em câmaras de Demanda Química de Oxigênio (BOD) (Eletrolab®). Após 24 horas, a germinação foi paralisada com a adição de uma gota de lactofenol de Amann espalhada sobre o meio de cultura. A avaliação da

porcentagem de germinação constituiu na contagem dos 100 primeiros conídios encontrados em cada placa de Petri em microscópio de luz. Foi considerado conídio germinado, aquele que apresentava tubo germinativo de tamanho igual ou superior ao comprimento do próprio conídio.

A inibição da germinação (IG) foi calculada pela seguinte equação: $IG = (G_{tc} - G_p) / G_p \times 100$, onde G são as frequências médias de conídios germinados em tratamento controle, sem o produto, e G_p são as frequências médias de conídios germinados em tratamentos com o produto. A EC_{50} , curva de dose-resposta graduada que representa a concentração do produto para qual inibiu 50% da germinação de *P. vitis*, foi calculada por meio de regressão linear de primeiro grau entre os valores obtidos de IG e o \log_{10} das concentrações do produto.

2.2.2 Inibição do peso micelial de *Pseudocercospora vitis* em função das concentrações dos controles alternativos

A determinação do peso micelial de *P. vitis*, foi avaliada nas concentrações de 5, 10, 50, 100 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos tratamentos. O teste foi realizada no escuro, sendo quatro Erlenmeyers contendo meio líquido de caldo de batata e dextrose (BD) para cada concentração. A metodologia empregada foi a de crescimento micelial em meio líquido, utilizando-se os mesmos produtos da safra 2017/2018. Os produtos foram dissolvidos em água estéril, ajustados para 10 $\mu\text{g ia mL}^{-1}$ e incorporado em 150 mL de meio BD em Erlenmeyer de 250 mL. Os produtos foram adicionados ao meio líquido BD autoclavado e arrefecido a 45 °C. Um disco de micélio (5 mm de diâmetro) de *P. vitis*, com 14 dias de idade, foi colocado nos meios de cultura (líquido) de cada tratamento. A testemunha constitui-se apenas de meio líquido BD sem produto, acrescido de um disco de micélio de *P.vitis*. Os frascos foram acondicionados em agitador a 150 rotações por minuto por

14 dias, em temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$). Após este período, separou-se a massa micelial do meio líquido, coando-se com auxílio de uma peneira pequena. Determinou-se o peso da massa micelial fresca (g) de cada tratamento em balança semi-analítica com precisão de 0,01g.

A inibição do peso micelial (IP) de *P. vitis* foi calculada pela seguinte equação: $IP = (P_{tc} - P_p) / P_{tc} \times 100$, onde P_{tc} é a frequência média de peso da massa micelial no tratamento controle, sem o produto e P_p são as frequências médias de peso da massa micelial em tratamentos com o produto. A EC_{50} , concentração dos produtos necessários para inibir 50% do peso da massa micelial de *P. vitis*, foi calculada por meio de regressões lineares de primeiro grau, entre os valores obtidos para IP e o \log_{10} da concentração do produto.

As análises dos dados deste trabalho foram realizadas com o ambiente R (R Core Team, 2018).

3. RESULTADOS

3.1 Testes à campo

Nas safras 2016/2017 e 2017/2018, os primeiros sintomas da MFV nas folhas marcadas se iniciaram a partir do mês de dezembro, com acréscimo ao longo dos dois meses subsequentes. Os meses de janeiro e fevereiro, apresentaram temperaturas médias mensais mais elevadas que os demais meses do ano. Na safra 2016/2017, a temperatura média mensal foi de $20,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ para janeiro e de $21,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ para fevereiro. Na safra 2017/2018, a temperatura média mensal foi de $19,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ para janeiro e de $19,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para fevereiro. Nesses meses, ocorreram também temperaturas mínimas mais elevadas, acima de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Fig. 1a e 1b). Até a primeira quinzena de janeiro, a severidade média inicial da MFV situou-se abaixo de 10%, com crescente aumento ao longo do tempo, chegando a valores de 20%,

na última avaliação do experimento, na safra 2016/2017 e de 35% na safra 2017/2018, (Fig. 2a e 2b). No final do mês de janeiro, em ambas as safras, a incidência da doença foi de 100% nos ramos avaliados, havendo maior variação entre as repetições no início das avaliações, diminuindo ao longo do tempo, até atingir 100% de incidência (Fig. 2c e 2d).

3.1.1 Safra 2016/2017

Os tratamentos testemunha e aplicação de água, apresentaram maiores valores de severidade média, em relação aos produtos alternativos testados a campo, chegando a 20% na última avaliação. Os demais tratamentos mantiveram os valores de severidade abaixo de 10%, sendo que o acetato de eugenila e o produto tecnológico PTCV tiveram severidade média menor que 5%. A partir da quarta avaliação, metade do mês de janeiro, pode-se observar a diferenciação da severidade entre a testemunha e os demais tratamentos, ficando mais evidente na última avaliação no mês de fevereiro (Fig. 3a).

Para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPsev) da MFV, os produtos: acetato de eugenila, produto tecnológico PTCV, calda bordalesa, Serenade[®] e Serenade[®] acrescido de melado de cana a 1%, não diferiram significativamente, apesar do tratamento PTCV a apresentar o menor valor de AACPsev. Os tratamentos com aplicação de água e Serenade[®] acrescido de melado de cana 2%, não diferiram estatisticamente da testemunha (Tabela 2).

Para a severidade média determinada aos 42 dias de avaliação, período até o qual não ocorreu queda de folhas, a aplicação apenas de água foi o único tratamento semelhante a testemunha, com severidade acima de 12%. Os demais produtos proporcionaram redução da doença. O PTCV e o acetato de eugenila apresentaram menores valores de severidade, máximo de 3%, sendo diferentes dos demais tratamentos. A calda bordalesa juntamente com o biofungicida Serenade acrescido ou não de melado

de cana, foram semelhantes, apresentando valores intermediários de severidade, entre 4 e 8% (Tabela 2).

A seleção dos modelos para o progresso temporal da severidade da mancha das folhas da videira, indicou o modelo logístico para a testemunha, a aplicação com água e o biofungicida Serenade[®] acrescido de melado a 2%. Os demais tratamentos estão representados pelo modelo linear (Tabela 3). O único tratamento diferente da testemunha foi PTCV, no parâmetro inóculo inicial, definido pelos intervalos de confiança (Anexo Figura 2).

Para os dados de desfolha da videira apenas o tratamento calda bordalesa apresentou diferença significativa dos demais tratamentos, exibindo maior queda de folhas na última data de avaliação (14 de fevereiro) (Figura 4).

3.1.2 Safra 2017/2018

O tratamento testemunha apresentou o maior valor de severidade média, em relação aos produtos alternativos testados a campo, acima de 30% na última avaliação. Os demais tratamentos mantiveram valores de até 24%, sendo que o acetato de eugenila e o produto tecnológico PTCV tiveram severidade média menor, próximo a 10%. A partir da terceira avaliação, na metade de janeiro de 2018, pode se observar a diferenciação da severidade entre a testemunha e os demais tratamentos, ficando mais evidente na última avaliação, final de fevereiro de 2018. Calda bordalesa e Serenade[®] tiveram valores de severidade intermediários, aproximadamente 20% (Fig. 3b).

Para a AACPsev da MFV, os produtos à base de Serenade[®] foram semelhantes a testemunha. Os produtos acetato de eugenila sozinho ou acrescido de bicarbonato de potássio, o PTCV e calda bordalesa foram semelhantes entre si.

Para a severidade média determinada aos 42 dias de avaliação, a testemunha apresentou a maior valor de severidade (12%). Os tratamentos à base de Serenade[®] e o

produto PTCV foram semelhantes a testemunha. Os produtos à base de acetato de eugenila e a calda bordalesa proporcionaram redução da doença, diferindo dos demais tratamentos, com severidade de até 6% (Tabela 2).

A seleção dos modelos para o progresso temporal da severidade da mancha das folhas da videira, indicou o modelo logístico para a maioria dos tratamentos, exceto para o biofungicida Serenade[®] acrescido de melado a 2%, melhor representado pelo modelo exponencial (Tabela 3). Os tratamentos foram comparados por contrastes de parâmetros epidemiológicos sendo que o único tratamento diferente da testemunha foi o PTCV, no parâmetro taxa de progresso da doença, definido pelos intervalos de confiança (Anexo Fig. 2). Para a incidência da MFV, os tratamentos foram comparados constrastes de parâmetros epidemiológicos, definindo o modelo em função do intervalo de confiança (Anexo Fig. 1)

Para os dados de desfolha da videira não houve diferença significativa entre os tratamentos na última avaliação no final de fevereiro (Fig. 4).

3.2 Inibição da germinação de conídios e peso micelial de *Pseudocercospora vitis* em função das concentrações dos controles alternativos

O tratamento acetato de eugenila acrescido individualmente de bicarbonato de potássio apresentou o menor valor de concentração efetiva para inibir 50% da germinação ($30,9 \mu L^{-1}$) e do peso micelial ($38,5 \mu L^{-1}$) de *P. vitis* (Tabela 4).

O produto tecnológico PTCV, apresentou a segunda menor EC50 ($43,29 \mu L^{-1}$) para a germinação, seguido pelos produtos acetato de eugenila e Serenade[®] individualmente ou acrescido de melado de cana, em que a concentração foi de aproximadamente $80 \mu L^{-1}$. A calda bordalesa teve uma EC50 considerada alta de $201,6 \mu L^{-1}$.

Para o peso micelial, os tratamentos acetato de eugenila e PTCV apresentaram a segunda menor EC50 (62,6 e 68,9 μL^{-1} , respectivamente), seguido pelo Serenade[®] (74,8 μL^{-1}). Os tratamentos com Serenade[®] acrescido de melado de cana apresentaram uma EC50 em torno de 150 μL^{-1} . A calda bordalesa teve o maior valor de concentração efetiva, aproximadamente 11 vezes a dose do acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio.

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, os produtos acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio e PTCV mostraram-se promissores no controle da MFV a campo, mesmo sob condições de alta pressão de inóculo, reduzindo a severidade da doença e atuando na fase inicial de infecção do hospedeiro.

A epidemia da MFV, referente ao tratamento testemunha, foi melhor representada pelo modelo logístico, amplamente utilizado para representar patossistemas que se comportam de maneira policíclica (Madden et al., 2007). Ferreira (2012) verificou que a MFV inicialmente poderia ser expressa pelo modelo exponencial, com severidade até 5%. Posteriormente, o autor observou um rápido aumento da severidade, concluindo que ao longo do tempo a doença expressa um comportamento mais severo, características do modelo logístico.

Ao comparar dados de parâmetros de severidade, a testemunha, nas duas safras, expressou comportamento logístico, com maior valor de assíntota na segunda safra, ano em que a severidade de doença foi maior. Como na primeira safra a maioria dos tratamentos apresentaram comportamento linear, não foi possível comparar com a testemunha. Na safra 2017/2018, os tratamentos a base de Serenade[®], Serenade[®]

acrescido de 1% de melado de cana e o produto tecnológico apresentaram assíntota muito próximas a testemunha. Para o inóculo inicial, os valores ficaram muito próximos a testemunha, sem haver diferença entre os tratamentos, provavelmente a cobertura de tratamento das superfícies foliares não foi perfeita, o que pode explicar as semelhanças no inóculo inicial. Segundo Bergamin Filho (2011), o aumento dos sintomas da doença à campo se deve principalmente à quantidade de inóculo que chega à superfície da planta, importante parâmetro relacionado ao monociclo de uma doença. No entanto, a MFV é uma doença policíclica e o aumento dos sintomas ocorre principalmente devido aos ciclos secundários do patógeno no hospedeiro (Bergamin Filho, 2011) e pelo aumento do tamanho das lesões, como já estudado (Rogovski-Czaja et al., 2019) não dependendo apenas do inóculo inicial. Sendo assim, a aplicação preventiva de agentes de controle alternativos sobre as superfícies foliares, pode ser importante para prevenir a infecção primária pelo patógeno. Neste trabalho, isso pode ser concluído, tendo em vista que, as aplicações dos produtos acetato de eugenila individualmente ou acrescido de bicarbonato de potássio e o produto tecnológico PTCV, em doses menores que os demais tratamentos, em especial, a calda bordalesa, muito utilizada no sistema de produção orgânica, apresentam efeito fungicida sobre a germinação e o crescimento micelial de *P. vitis*.

A maioria das doenças de plantas apresentam respostas diferenciadas em função das variáveis meteorológicas, como temperatura e precipitação, esse fato é bem conhecido e tem sido a base para a tomada de decisões por agricultores e formuladores de políticas (Garretti et al., 2016). Para a MFV, no período de avaliação, o mês de janeiro na safra 2016/2017 e dezembro e janeiro na safra 2017/2018 apresentaram precipitação acima de 150 mm, além de grande amplitude térmica entre as temperaturas de dia e a noite (mínima acima de 12 °C e máximas acima de 30 °C). Além disso, a ocorrência de orvalho pela manhã, mesmo em dias sem ocorrência de precipitação, como observado por

Ferreira (2012) nesta mesma área experimental, mostrou-se fundamental para o desenvolvimento da MFV. Para esta doença, períodos mais longos de molhamento (acima de 12 horas) e temperaturas mais altas (24 e 28 °C) favorecem a germinação e o crescimento micelial de *P.vitis* (Rogovski-Czaja, et al., 2019).

Em relação aos tratamentos, o acetato de eugenila reduziu a severidade da MFV, apresentando bons resultados para o controle da epidemia nas duas safras. Para este éster, já foram relatados trabalhos demonstrando sua ação antifúngica (Musthafa et al., 2016) e antibacteriana (Vanin 2014). No presente trabalho, a aplicação de acetato de eugenila em intervalos semanais causou fitotoxicidade nas folhas tratadas na primeira safra. Na safra seguinte, poucas folhas apresentaram fitotoxicidade, provavelmente devido ao fato das aplicações serem realizadas quinzenalmente. O acetato de eugenila utilizado neste trabalho é uma formulação a base de eugenol, composto majoritário do óleo de canela (*Cinnamomum* sp.) (Krasniak, 2015), de fácil aquisição e que este composto já apresenta bons resultados no controle de diversos patógenos como *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena* doenças em maçã (Amiri et al., 2008) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomateiro (La Torre et al., 2015). O acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio foi eficiente no controle da MFV, reduzindo a severidade da doença, em relação a testemunha. Testes em videiras para o controle da MFV mostraram bons resultados do uso de bicarbonato de sódio e potássio (Park et al., 2014). Em pós colheita, o acréscimo de bicarbonato, neste caso o de sódio, tem efeito sobre o crescimento micelial, a produção e germinação de esporos e a produção de apressórios de *Colletotrichum musae in vitro*, bem como no controle efetivo de outras doenças que acometem a cultura da bananeira (De Costa e Gunawardhana, 2012). Além do controle de doenças, o uso de bicarbonato pode melhorar a vida de prateleira de algumas frutas, como a banana (Vilaplana et. al., 2018).

O produto tecnológico PTCV apresentou resultados promissores para o controle da MFV, sendo eficiente na redução da severidade dessa doença. O uso de extratos herbáceos é uma eficiente alternativa de manejo no controle de doenças de plantas, inclusive sendo aplicado na forma de solução no período de pós-colheita (Bazie et al., 2014). Nessa linha, a utilização de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) apresentou controle sobre a MFV, havendo aumento da atividade da enzima quitinase, enquanto a atividade da enzima catalase diminuía (Maia et al., 2014). Entretanto, para a viabilidade do PTCV como controlador desta doença, são necessários mais estudos sobre a persistência do produto no campo.

O biofungicida Serenade[®] apresentou redução da severidade da MFV, porém os resultados não diferiram da testemunha. Mesmo com a adição de melado de cana-de-açúcar como fonte inicial de carboidratos, a ação da bactéria *B. subtilis* não apresentou resultados satisfatórios no controle da MFV. Shasaltaneh et al. (2013) observaram que o acréscimo de 1% de melado de cana-de-açúcar promoveu um incremento na biomassa de *B. subtilis*. Entretanto, concentrações superiores de melado, apesar de favorecerem a aderência do produto à superfície foliar, levam à inibição do crescimento bacteriano, devido ao aumento da concentração de solutos, que por consequência altera a interação das moléculas na membrana celular e a regulação do metabolismo intracelular bacteriano (Miranda et al., 2007). O uso de *B. subtilis* no controle de doenças de plantas é relatado para a mancha foliar de *Glomerella* (gênero *Colletotrichum*) em macieira. Nesse caso, além de expressar alto potencial contra à doença, o biofungicida Serenade[®] foi capaz de produzir metabólitos termoestáveis antifúngicos, inibindo completamente o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* (Moreira et al., 2014).

Em cultivos de videira, principalmente em produções orgânicas, o uso dos fungicidas cúpricos, como a calda bordalesa, é amplamente utilizado no controle de

doenças fúngicas, sendo considerado um fungicida com efeito protetor, menos tóxico e de menor custo (Peruch e Bruna, 2008). Na safra 2016/2017, a aplicação de calda bordalesa 0,3%, dose menor que a recomendada para videiras (Maia et al., 2014; Martins et al., 2014), causou sintoma de fitotoxicidade nas folhas que receberam o produto, podendo ser identificada pela coloração marrom na face abaxial e pela redução da expansão da folha tratada, quando comparada às folhas que não receberam o tratamento. A ocorrência de fitotoxicidade já foi observada em culturas, como a goiabeira (Goes et al., 2004), videira (Albarello et al. 2013; Ferreira, 2012;), cereja (Holb e Schnabel 2005).

Muitos fatores podem levar à fitotoxicidade de Cu em plantas, incluindo a aplicação de formulações de Cu altamente solúveis (sulfato de cobre, nitrato de cobre), quantidade excessivamente alta ou pulverizações muito frequentes. Outro fator que pode causar fitotoxicidade é o preparo e uso de caldas muito ácidas (pH inferior a 5,5) que resulta em Cu solúvel em excesso, ou ainda mistura de tanque de Cu com outros produtos, aplicação de Cu em temperaturas elevadas, tempo seco e presença de impurezas no produto (Behlau et al. 2017; Timmer e Zitko 1996; Lamichhane et al., 2018). Entretanto, o uso de Cu em vinhedos vai além do efeito protetor deste fungicida no controle de doenças em videira. A aplicação frequente de fungicidas a base de cobre leva a contaminação do solo, aumentando os níveis deste metal pesado, podendo atingir níveis fitotóxicos, que causam danos no crescimento, estado fisiológico e alterações na morfologia radicular de videiras (Martins et al., 2014; Trentin et al., 2019).

Na safra 2016/2017, o tratamento a base de calda bordalesa apresentou fitotoxicidade nas folhas que receberam este tratamento, o que levou a maior porcentagem de defolha na última avaliação. Isto ocorreu provavelmente pela aplicação mais frequente do tratamento, em intervalos de aproximadamente sete dias. Na safra seguinte, os

intervalos foram quinzenais, e não houve diferença estatística entre os tratamentos quanto a desfolha.

O acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio seguido pelo produto tecnológico PTCV, apresentaram os menores valores de EC50, indicando que baixas concentrações efetivas destes produtos já tem um efeito sobre o desenvolvimento do patógeno. A atividade antifúngica do eugenol leva a alterações na membrana e sua permeabilidade, gerando à sua desestabilização e ruptura. Ocorrem alterações morfológicas consideráveis em hifas, como coagulação citoplasmática, vacuolização e murchamento das hifas além da indução da geração de H₂O₂ e aumento do Ca²⁺ livre no citoplasma (Wang et al., 2010). Contudo, os autores observaram que não houve efeito do eugenol sobre a germinação, apenas sobre o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, indicando efeito do produto nos processos pós-germinação. A calda bordalesa apresentou concentrações efetivas mais elevadas para alcançar 50% da inibição de germinação e crescimento micelial. Fleming e Trevors (1989), ressaltam que o Cu como biocida requer doses mais altas para sua ação, interferindo na interação com ácidos nucléicos, interrupção de sítios ativos de enzimas, interferência no sistema de transporte de energia e finalmente a quebra da integridade das membranas celulares.

Finalmente, os produtos alternativos, acetato de eugenila acrescido de bicarbonato de potássio e o produto tecnológico PTCV foram os que melhor controlaram a doença à campo, reduzindo a severidade, e agindo sobre a germinação de conídios e o crescimento micelial de *P.vitis*. Dessa forma, estes resultados indicam que estes produtos podem ser uma alternativa promissora aos fungicidas tradicionais utilizados no manejo da MFV e conseqüentemente, por serem produtos de origem natural, uma opção de controle de baixo impacto ao meio ambiente, à saúde do aplicador e do consumidor.

REFERÊNCIAS

Albarello, J. B., Dal magro, R., Melo, G. W. B. de, Freitas, R. F., Rodighero, K., Oliveira, P. D. de 2013. Efeito da adição da parte aérea de plantas de cobertura na fitotoxicidade de cobre em solo cultivado com videira. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 34, 3. Acesso 15 de junho de 2019 <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/992448>

Alves G.; May-De Mio L. L. 2008. Efeito da desfolha causada pela ferrugem na floração e produtividade do pessegueiro. Rev. Bras. Frutic., 30, 4.

Ambrosini, V. G., Rosa, D. J., Prado, J. P. C., Borghezán, M., de Melo, G. W. B., Soares, C. R. F. S., Comin, J. J., Simão, D. G., Brunetto, G. 2015. Reduction of copper phytotoxicity by liming: A study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca* L.). Plant Physiology and Biochemistry, 96, 270-280.

Amiri, A., Dugas, R., Pichot, A. L., Bompeix, G. 2008. *In vitro* and *in vitro* activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. International Journal of Food Microbiology, 126, 13-19.

Ammad, F., Moumen, O., Gasem, A., Othman, S., Hisashi, K., Zebib, B., Merah, O., 2018. The potency of lemon (*Citrus limon* L.) essential oil control some fungal disease of grapevive wood. Plant Biol. Pathol. 341, 97-101.

Amorim, L., Spósito, M. B., Kuniyuki, H., 2016. Doenças da videira. In: Amorim, L. (5^a ed.). Manual de Fitopatologia doença de plantas cultivadas, p.p 752, L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamim Filho, L. E. A. Camargo, Minas Gerais, Brazil.

Bazie, S., Ayalew, A., Woldetsadik, K. 2014. Integrated management of postharvest banana anthracnose (*Colletotrichum musae*) through plant extracts and hot water treatment. Crop Protection, 66, 14-18.

Behlau, F., Scandelai, L. H. M., da Silva Junior, G. J., Lanza, F. E. 2017. Soluble and insoluble copper formulations and metallic copper rate for control of citrus canker on sweet orange trees. Crop Prot 94, 185–191.

Bergamin Filho, A.; Amorim, L.; Willocquet, L.; Savary, S. 2018. Epidemiologia de doenças de plantas. In: Amorim, L. (5^a ed.). Manual de Fitopatologia Principios e

conceitos, p.p 71-76., L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamim Filho, L. E. A. Camargo, Minas Gerais, Brazil.

De Costa, D. M., Gunawardhana, H. M. D. M. 2012. Effects of sodium bicarbonate on pathogenicity of *Colletotrichum musae* and potential for controlling postharvest diseases of banana. *Crop Protection*, 68, 54-63.

FAO. Produção de frutas frescas no mundo. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat>>. Acesso em: 03/10/2018.

Ferreira, G. M. Progresso e controle alternativo de mancha das folhas (*Pseudocercospora vitis*) e míldio (*Plasmopara viticola*) em videiras rústicas na região metropolitana de Curitiba. 2012. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Fleming, C. A., Trevors, J.T. 1989 Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water Air Soil Pollut* 44,143–158.

Garrett, K. A., Nita, M., De Wolf, E. D., Esker, P. D., Gomez-Montano, L., Sparks, A. H. 2016. Chapter 21 - Plant Pathogens as Indicators of Climate Change. *Climate Change (Second edition) Observed Impacts on Planet Earth*, 325-338.

Goes, A., Martins, R. D., Dos Reis, R. F. 2004. Efeito de fungicidas cúpricos, aplicados isoladamente ou em combinação com mancozeb, na expressão de sintomas de fitotoxicidade e controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em goiabeira. *Rev. Bras. Frutic.*, 26, 237-240.

Holb, I. J , Schnabel, G. 2005. Efeito de tratamentos fungicidas e práticas de saneamento na incidência de podridão da flor de podridão parda, fitotoxicidade, e rendimento para produção de cereja ácida orgânica. *Plant Dis* 89, 1164–1170.

Horsfall, J. G. 1956. Fungicidal action and its measurement In *pPrincipales of fungicidal action*; p. p 15-29, *Chronica Botanica*, Waltham, MA, USA.

IBGE: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Produção de frutas frescas no Brasil. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 de setembro de 2018.

IPARDES: Base de Dados do Estado. Produção de uva nas regiões geográficas do Paraná. Disponível em: <<http://www.ipardes.pr.gov.br/imp/index.php>>. Acesso em: 30 de

setembro de 2018.

Krasniak, M. prospecção de biofungicidas visando o desenvolvimento de metodologias para o controle biorracional do fitopatógeno do pêssego *Monilinia fructicola* no pré e pós-colheita. 2015. 92p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Lahlali, R., Peng, G., McGregor, L., Yu, F. Q., Hynes, R. K., Hwang, S. F., McDonald, M. R., Boyetcko, S. M. 2013. Evidence that the biofungicide Serenade (*Bacillus subtilis*) suppresses clubroot on canola via antibiosis and induced host resistance, *Biological control*, 103, 245-254.

Lamichhane, J. R.; Ebrahim Osdaghi, E.; Behlau, F.; Köhl, J.; Jones, J. B.; Aubertot, J. 2018. Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. *Agron. Sustain. Develop.* 38, 1-18.

La Torre, A., F. Caradonia, F., Matere, A., Battaglia, V. 2015. Using plant essential oils to control Fusarium wilt in tomato plants. *Eur. J. Plant Pathol.*, 144, 487-496.

Leite, C. D.; Maia, A. J.; Botelho, R. V.; Faria, C. M. D. R.; Machado, D. 2012. Extrato de alho no controle *in vitro* e *in vivo* da antracnose da videira. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14, 556-562.

Lenz, G., Costa, I. N., Balardin, R. S., Marques, L. N., Arruél, A., Stefanelo, M. S., Zemolin, C. R. 2009. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de Isariopsis da videira. *Ciência Rural* 39, 2301–2308.

Liang, C., Jayawardena, R. S., Zhang, W., Wang, X., Liu, M., Liu, L. Z. C., Xu, X., Hyde, K. D., Yan, J., Li, X., Zhao, K. 2016. Identification and characterization of *Pseudocercospora* species causing grapevine leaf spot in China. *J Phytopathol.* 164, 75–85

Maia, A. J., Oliveira, J. S. B., Schwan-Estrada, K. R. F., Faria, C. M. R., Batista, A. F. 2014. The control of isariopsis leaf spot and downy mildew in grapevine cv. Isabel with the essential oil of lemon grass and the activity of defensive enzymes in response to the essential oil. *Crop Protection.* 63, 57-67

Madden L. V, Hughes G; Bosh F. V. D. 2007. The study of plant disease epidemics.

Minnesota, The American Phytopathological Society. 421p.

Martins, V., Teixeira, A., Bassil, E., Blumwal, E., Gerós, H. 2014. Metabolic changes of *Vitis vinifera* berries and leaves exposed to Bordeaux mixture. *Plant Physiology and Biochemistry*. 82, 270-278.

Miranda, J. E., Bettini, P. C., Gusmão, L. C. A., Oliveira Neto, B. A. 2007. Uso de produtos adjuvantes em aplicações aéreas e terrestres de inseticidas no controle do bicudo do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 6., Uberlândia. Anais... Campina Grande: Embrapa algodão, 2007.

Moreira, R. R., Nesi, C. N., May De Mio, L. L. 2014. *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* as inhibitors of the *Colletotrichum acutatum* group and potential to control Glomerella leaf spot. *Biological control*, 72, 30-37.

Moreira, R. R., May De Mio, L. L. 2015. Potential biological agents isolated from apple fail to control Glomerella leaf spot in the field. *Biological control*, 87, 56-63.

Musthafa, K. S., Hmoteh, J., Thamjarungwong, B., Voravuthikunchai, S. P. 2016. Antifungal potential of eugenyl acetate against clinical isolates of *Candida* species. *Microbial Pathogenesis*, 99, 19–29.

Park, S., Kim, S., Woo, J., Choi, S., Park, S. 2014. Control of grapevine leaf spot caused by *Pseudocercospora vitis* with application of bicarbonate. *Fruit Grow Res* 30, 53–57.

Peruch, L. A. M., Bruna, E. D. 2008. Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. *Ciência Rural*, 38, 2413–2418.

Rogovski-Czaja, E. A.; Moreira, R. R., Nunes, C. N., Duarte, H. S. S., May De Mio, L. L. 2019. Understanding components of the grapevine leaf spot monocycle and comparing resistance of *Vitis labrusca* cultivars. *J. Plant Pathol.* <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00281-y>

Shaner, G., Finney. R. E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 67,1051-1056.

Shasaltaneh, M. D., Moosavi-nejad, Z., Gharavi, S., Fooladi, J. 2013. Cane molasses as a source of precursors in the bioproduction of tryptophan by *Bacillus subtilis*. *Iranian*

Journal of Microbiology, 5, 285-292.

Sônego, O.R., Garrido, L. da R., Junior Grigoletti, A. 2003. Doenças fúngicas. In: FARJADO, T.V.M. Uvas para o processamento. Embrapa uva e vinho, Bento Gonçalves, 131.

R Development Core Team 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Accessed 29 de novembro de 2018.

Ryu, Y., Bae, S., Yeon, I., Kim, K., Park, S., Park, J., Park, J. 2016. Photosynthetic rates of ‘Campbell Early’ organic grape as affected by degree of leaf spot disease caused by *Pseudocercospora vitis*. Korean Journal Organic Agriculture 24, 773-786.

Timmer L. W., Zitko S. E. 1996. Evaluation of copper fungicides and rates of metallic copper for control of melanose on grapefruit in Florida. Plant Dis. 80, 166–169.

Tretin, E., Facco, D. B., Hammerschmitt, R. K., Ferreira, P. A. A., Morsch, L., Belles, S. W., Ricachenevsky, F. K., Nicoloso, F. T., Ceretta, C. A., Tiecher, T. L., Tarouco, C. P., Berghetti, A. L. P., Toselli, M., Brunetto, G. 2019. Potential of vermicompost and limestone in reducing copper toxicity in young grapevines grown in Cu-contaminated vineyard soil. Chemosphere, 226, 421-430.

Vilaplana, R., Alba, P., Valencia-Chamorro, S. 2018. Sodium bicarbonate salts for the control of postharvest black rot disease in yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). Crop Protection, 114, 90-96.

Vanin, A. B. Produção, propriedades biológicas, antioxidantes e toxicidade do bioaromatizante obtido via esterificação enzimática de óleo essencial do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus*). 2014. 139 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim.

Wang, C., Zhang, J., Chen, H., Fan, Y., Shi, Z. 2010. Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. Tropical Plant Pathology, 35, 137-143.

Yáñez-Mendizábal, V., Falconí, C. E. 2018. Efficacy of *Bacillus* spp. to biocontrol of anthracnose and enhance plant growth on Andean lupin seeds by lipopeptide production. Biological control, 122, 67-75.

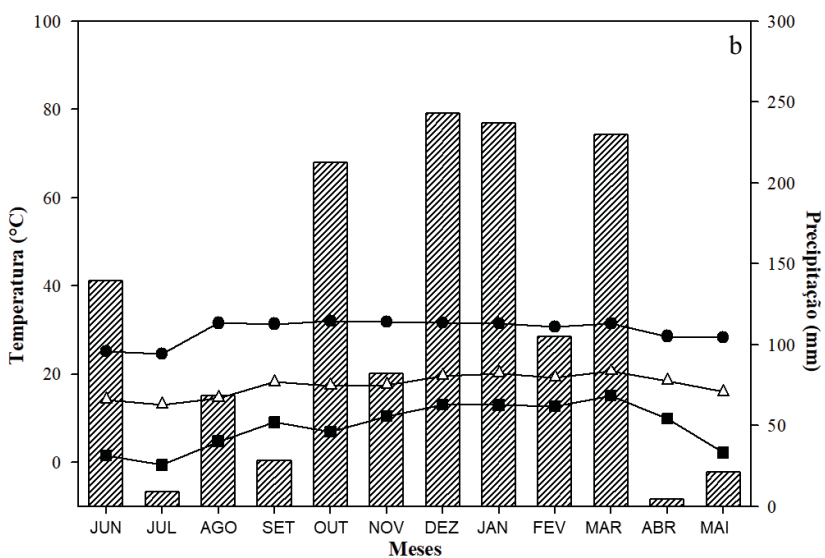
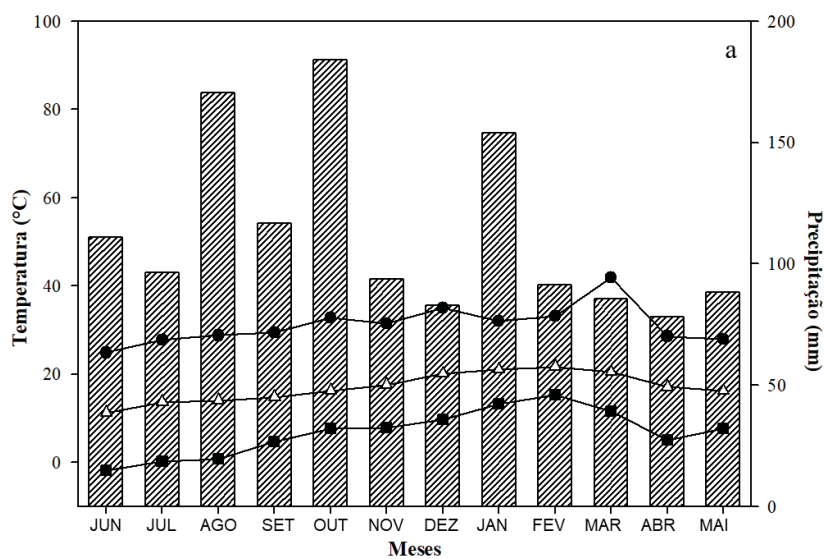


Fig. 1. Dados meteorológicos da estação automática de Pinhais (PR), referente as estações de crescimento (a) 2016/2017; e (b) 2017/2018, coletados pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR). As barras verticais representam a precipitação média mensal (mm). As linhas representam as médias mensais das temperaturas: temperatura máxima (círculo); temperatura média (triângulo) e temperatura mínima (quadrado).

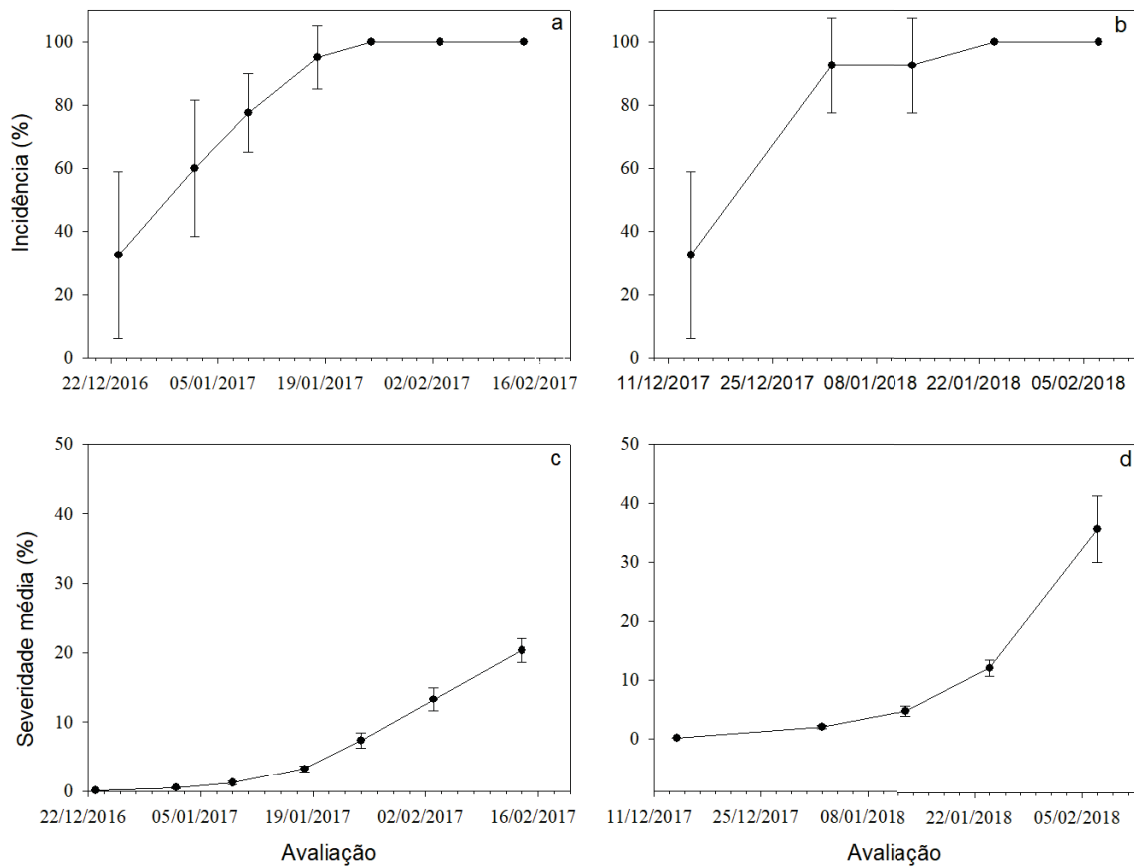


Fig. 2. Curvas do progresso da incidência (porcentagem de folhas com sintomas) e da severidade (porcentagem de área foliar com sintomas) da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*) no tratamento testemunha (sem aplicação), safras (a, c) 2016/2017; e (b, d) 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil.

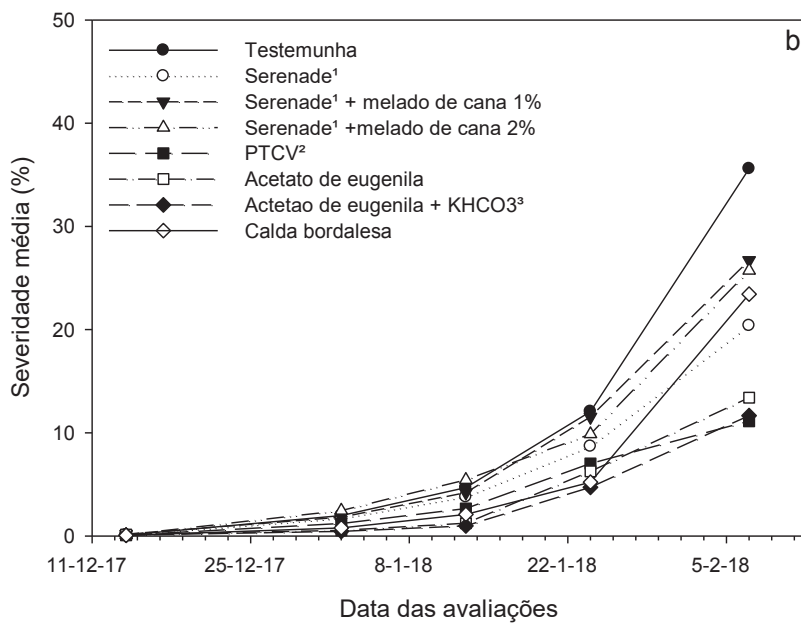
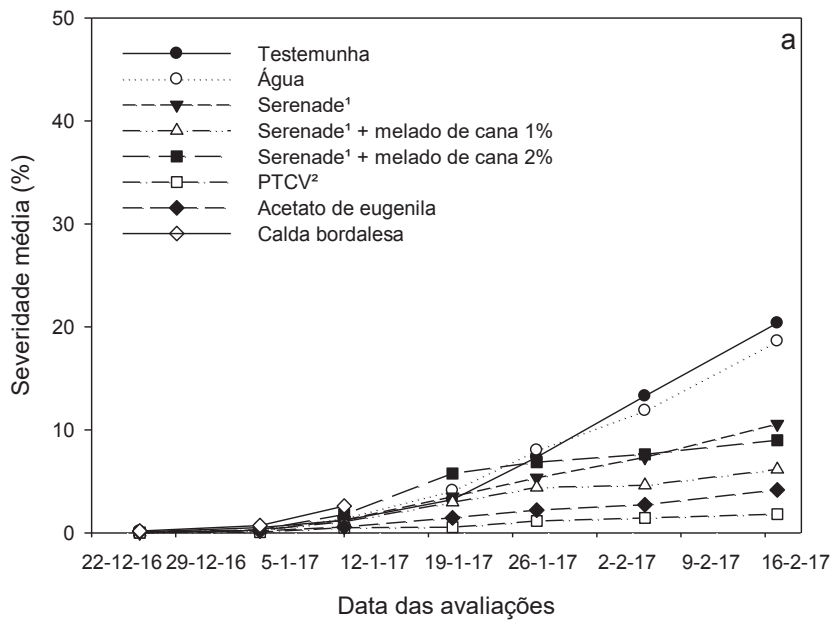


Figura 3. Curva de progresso da severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos e testemunha (sem aplicação), safras (a) 2016/2017 e (b) 2017/2018, Pinhais, Paraná Brasil.

¹ Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*. ² PTCV – produto tecnológico a base de extrato de planta.

³ Bicarbonato de potássio.

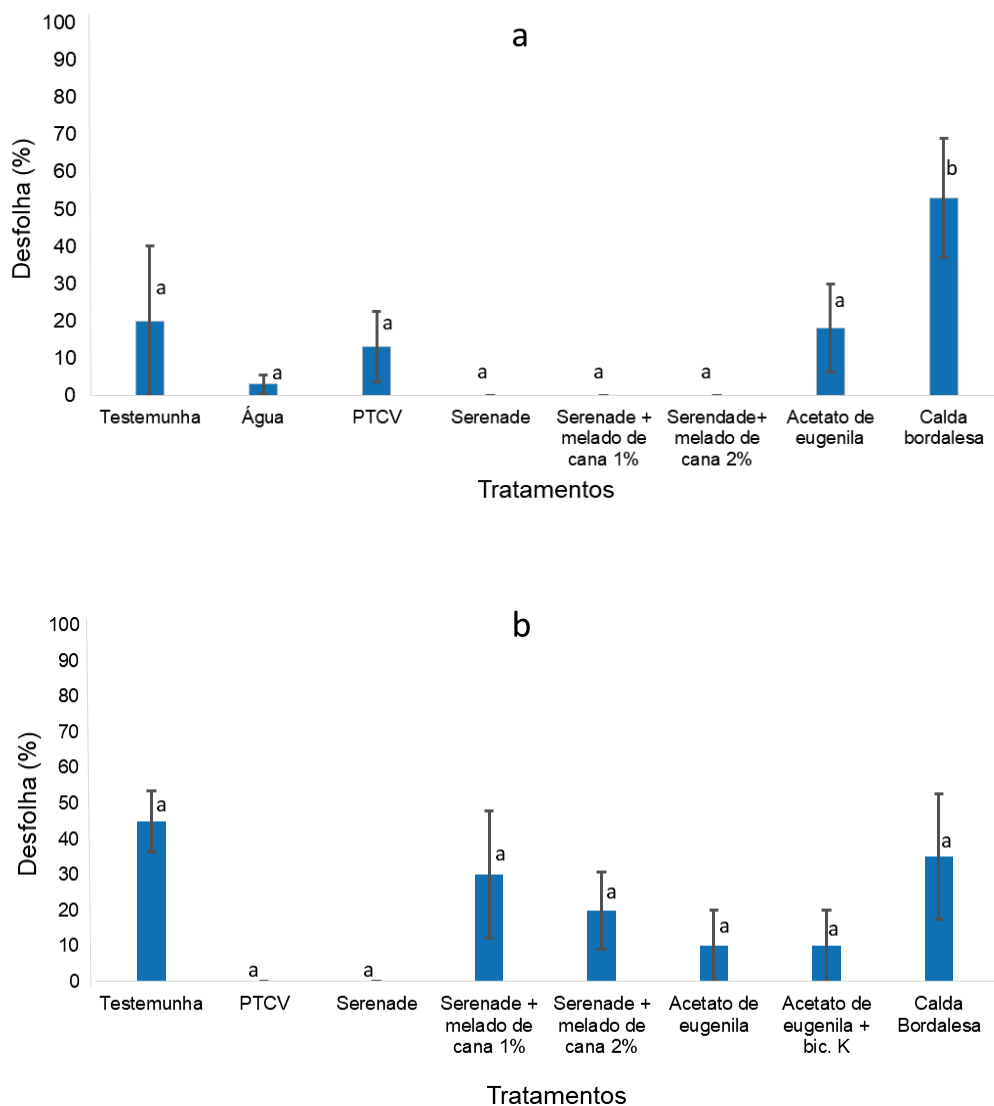


Fig. 4. Porcentagem média de desfolha na última data de avaliação, em fevereiro, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com produtos alternativos no mês fevereiro, nas safras (a) 2016/2017; e (b) 2017/2018, Pinhais, Paraná Brasil.

*Barras com erro padrão. Letras iguais sobre a barra não diferem estatisticamente entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos testados em laboratório (*in vitro*) e à campo na cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos nas safras 2016/2017 e 2017/2018 para controle da mancha das folhas da videira, Pinhais, Paraná, Brasil.

Tratamentos	Concentração (%)	Safras		<i>In vitro</i>
		2016/2017	2017/2018	
Testemunha (sem aplicação de produto)		x	x	x
Água		x	-	-
Acetato de eugenila 0,1%	0,10	x	x	x
Acetato de eugenila 0,1% + KHCO ₃ ¹	0,10	-	x	x
Calda bordalesa (Bordasul ®) 0,3 %	0,30	x	x	x
PTCV ²	0,20	x	x	x
Serenade® ³ 0,2%	0,20	x	x	x
Serenade® ³ 0,2% + melado de cana a 1%	0,20	x	x	x
Serenade® ³ 0,2% + melado de cana a 2%		x	x	x

¹Bicarbonato de potássio. ²PTCV – produto tecnológico a base de extrato de plantas. ³Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*.

Tabela 2. Área abaixo da curva de progresso da severidade (AAPsev) e severidade média aos 42 dias de avaliação da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*) tratadas com os produtos alternativos a campo nas safras 2016/2017 e 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil.

Tratamento	AAPsev ¹		Média sev. 42dias ²	
	2016/2017	2017/2018	2016/2017	2017/2018
Testemunha	451,9 a	1281,5 a	15,1 a	12,1 a
Água	409,5 a	---	12,5 a	---
Acetato de eugenila	111,4 b	571,0 b	3,1 c	6,2 b
Acetato de eugenila + KHCO ₃ ³	---	498,7 b	---	4,7 b
Calda bordalesa (Bordasul®)	229,0 b	758,1 b	8,2 b	5,2 b
PTCV ⁵	65,0 b	615,5 b	2,0 c	7,0 a
Serenade® ⁴	238,0 a	987,5 a	7,7 b	8,7 a
Serenade® ⁴ + melado de cana 1%	171,1 b	1054,1 a	5,0 b	10,3 a
Serenade® ⁴ + melado de cana 2%	317,4 a	1179,4 a	8,6 b	9,8 a

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. ¹Área abaixo da curva de progresso da severidade. ²Média da severidade aos 42 dias de avaliação. ³Bicarbonato de potássio. ⁴Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*. ⁵PTCV – produto tecnológico a base de extrato de plantas.

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros epidemiológicos: assíntota máxima (y), inóculo inicial (y₀) e taxa de progresso da doença (r) obtidas da modelagem dos dados de severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com produtos alternativos, nas safras 2016/2017 e 2017/2018, Pinhais, Paraná, Brasil.

Tratamento	Estimativa dos parâmetros		
	a	y ₀	r
Saфра 2016/2017			
Testemunha	0,251*	0,006	0,129
Água	0,288*	0,015	0,095
Acetato de eugenila	-	-0,389**	0,084
Calda Bordalesa (Bordasul®)	-	0,136**	0,169
PTCV ¹	-	-0,168**	0,043
Serenade® ²	-	-1,311**	0,215
Serenade® ² + melado de cana 1%	-	-0,468**	0,132
Serenade® ² + melado de cana 2%	0,094*	0,015	0,178
Saфра 2017/2018			
Testemunha	1,052*	0,002	0,096
Acetato de eugenila	0,357*	0,004	0,090
Acetato de eugenila + KHCO ₃ ³	0,236*	0,002	0,107
Calda Bordalesa	0,312*	0,0001	0,174
PTCV ¹	1,707*	0,003	0,055
Serenade® ²	0,901*	0,004	0,074
Serenade® ² + melado de cana 1%	0,906*	0,004	0,082
Serenade® ² + melado de cana 2%	-	-9,187**	0,692

¹ PTCV – produto tecnológico a base de extrato de planta. ² Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*.

³ Bicarbonato de potássio. *Modelo logístico. ** Modelo linear.

Tabela 4. Valores de concentração efetiva ($\mu\text{g L}^{-1}$) para inibir 50% (EC_{50}) da germinação de conídios e crescimento micelial de *P. vitis* para os diferentes produtos alternativos testados à campo, Pinhais, Paraná, Brasil.

Tratamento	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	Germinação	Crescimento micelial
Acetato de eugenila	84,6	62,6
Acetato de eugenila + KHCO_3 ¹	30,9	38,5
Calda Bordalesa	201,6	446,5
PTCV ³	43,2	68,9
Serenade® ²	85	74,8
Serenade® + melado de cana 1%	82,7	152,7
Serenade® + melado de cana 2%	83,4	144,1

¹Bicarbonato de potássio. ² Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*. ³ PTCV – produto tecnológico.

REFERÊNCIAS GERAIS

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos fitossanitários (2019) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA. Acesso: 12/06/2019 http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

AGUIAR, R. L., SCALOPPI, E. M.T., GOES, A., SPÓSITO, M. B. Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em diferentes estádios fenológicos de frutos de laranja 'Valência'. **Tropical Plant Pathology** v. 37, n. 2, p. 155-158, 2012.

ALBARELLO, J. B., DAL MAGRO, R., MELO, G. W. B. DE, FREITAS, R. F., RODIGHERO, K., OLIVEIRA, P. D. de. 2013. Efeito da adição da parte aérea de plantas de cobertura na fitotoxicidade de cobre em solo cultivado com videira. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 34, 3. Acesso 15 de junho de 2019 <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/992448>

ALVES, G.; MAY-DE MIO, L. L. Efeito da desfolha causada pela ferrugem na floração e produtividade do pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n.4, 2008.

AMBROSINI, V. G., ROSA, D. J., PRADO, J. P. C., BORGHEZAN, M., DE MELO, G. W. B., SOARES, C. R. F. S., COMIN, J. J., SIMÃO, D. G., BRUNETTO, G. Reduction of copper phytotoxicity by liming: A study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca* L.). **Plant Physiology for Biochemistry**, v. 96, p. 270-280, 2015.

AMIRI, A., DUGAS, R., PICHOT, A. L., BOMPEIX, G. *In vitro* and *in vitro* activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, p. 13-19, 2008.

AMMAD, F., MOUMEN, O., GASEM, A., OTHMAN, S., HISASHI, K., ZEBIB, B., MERAH, O. The potency of lemon (*Citrus limon* L.) essential oil control some fungal disease of grapevine wood. **Plant Biology Pathology** v. 341, p. 97-101, 2018.

AMORIM, L.; SPÓSITO, M. B; KUNIYUKI, H. (2016) Doenças da videira. In: Amorim, L. (5ª ed.). **Manual de Fitopatologia doença de plantas cultivadas**, p.p 752., L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamim Filho, L. E. A. Camargo, Minas Gerais, Brazil.

ANÔNIMOS (2011) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução

normativa n. 46, de 6 de Outubro de 2011. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. Diário Oficial da União, 7 Outubro de 2011. Brasília, DF, Brasil.

ATAK, A., AKKURT, M., POLAT, Z., CELIK, H., KAHRAMAN, K. A., AKGUL, D. S., OZER, N., SOYLEMESOGLU, G., SIRE, G., EIBACH, R. Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) of vitis cultivars and genotypes. **Ciência e Técnica Vitivinícola** v. 32, n. 1, p. 23-32, 2017.

BAGGIO, J. S.; HAU, B.; AMORIM, L. Spatiotemporal analyses of rhizopus rot progress in peach fruit inoculated with *Rhizopus stolonifer*. **Plant Pathology**, v.66, n.9, p.1452–1462, 2017. doi:10.1111/ppa.12691

BAHRAMINEJAD, S.; SEIFOLAHPOUR, B., AMIRI, R. Antifungal effects of some medicinal and aromatic plant essential oils against *Alternaria solani* **Journal Crop Protection**, v.5, n.4, p.603-616, 2016.

BAKHSHI, M., ARZANLOU, M., BABAI-AHARI, A., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W. Multi-gene analysis of *Pseudocercospora* spp. from Iran. **Phytotaxa** v. 184, n. 5, p. 245–264, 2014.

BARROS, L. B., BIASI, L. A., CARISSE, O., MAY DE MIO, L. L. The influence of table grape rootstock and cultivar combinations on susceptibility to downy mildew. **Australasian Plant Pathology** v. 47, p. 171–179, 2018.

BASSANEZI, R. B., AMORIM, L., BERGAMIM FILHO, A., HAU, B. Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of Phaseolus bean at different temperatures. **Plant Pathology** v. 47, p. 289–298, 1998.

BAZIE, S., AYALEW, A., WOLDETSADIK, K. Integrated management of postharvest banana anthracnose (*Colletotrichum musae*) through plant extracts and hot water treatment. **Crop Protection**, v. 66, p. 14-18, 2014.

BERGAMIM FILHO, A., AMORIM, L. (1996). Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. **Ceres**, p.129-150. São Paulo, Brazil.

- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; WILLOCQUET, L.; SAVARY, S. (2018) In: Amorim, L. (5ª ed.). **Manual de Fitopatologia Princípios e conceitos**, p.p 71-76., L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamim Filho, L. E. A. Camargo, Minas Gerais, Brazil.
- BERGER, R. D., BERGAMIN FILHO, A., AMORIM, L. Lesion expansion as an epidemic component. **Epidemiology** v. 87, n. 10, 1997.
- BEHLAU, F., SCANDELAI, L. H. M., DA SILVA JUNIOR, G. J., LANZA, F. E. Soluble and insoluble copper formulations and metallic copper rate for control of citrus canker on sweet orange trees. **Crop Protection** n. 94, p. 185–191. 2017.
- Borges, R.S., Roberto, S. R., Yamashita, F., Assis, A. M., Yamamoto, L. Y. Produção e qualidade de frutos de clones de videira ‘Concord’ sobre diferentes porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária Tropical** v. 44, n.2, p. 198-204, 2014.
- CALVO-GARRIDO, C.; ROUDET, J.; AVELINE, N.; DAVIDOU, L.; DUPIN, S.; FERMAUD, M. Microbial antagonism toward botrytis bunch rot of grapes in multiple field tests using one *Bacillus ginsengihumi* strain and formulated biological control products **Front Plant Science**, v.10, n.105, 2019.
- CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A.; BEZERRA, M. A.; SOUZA NETO, J.; SOUZA R. N. M. (2005) **Epidemiologia do mofo-preto e danos na produção do cajueiro**. Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 23, 16p.
- CARVALHO, M. S., ANDREOZZI, V. L., CODEÇO. C. T., CAMPOS, D. P., BARBOSA, M. T. S., SHIMAKURA, S. E. (2011). *Análise de Sobrevivência: teoria e aplicações em saúde*. 2a ed. Rio de Janeiro, FIOCRUZ. 432p
- CHATZIDIMOPOULOS, M., PAPPAS, A. C. Epidemiology and control of *Septoria pyricola* in pear leaf and fruit. **Journal of Plant Pathology** v. 98, n. 447-452, 2016.
- CORREA-PACHECO, Z. N.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VALLE-MARQUINA, M. Á.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. The effect of nanostructured chitosan and chitosan-thyme essential oil coatings on *Colletotrichum gloeosporioides* growth *in vitro* and on cv Hass avocado and fruit quality. **Journal of Phytopathology**, v.165, p. 297–305, 2017.
- DE COSTA, D. M., GUNAWARDHANA, H. M. D. M. Effects of sodium bicarbonate on pathogenicity of *Colletotrichum musae* and potential for controlling postharvest diseases of banana. **Crop Protection** n. 68, p. 54-63, 2012.

FAO. Produção de frutas frescas no mundo. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat>>. Acesso em: 03/10/2018.

FERREIRA, G. M. Progresso e controle alternativo de mancha das folhas (*Pseudocercospora vitis*) e míldio (*Plasmopara viticola*) em videiras rústicas na Região Metropolitana de Curitiba. 2012, 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

FLEMING, C. A., TREVORS, J.T. Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. **Water, Air, and Soil Pollution** v. 44, p. 143–158, 1989

GARRETT, K. A., NITA, M., DE WOLF, E. D., ESKER, P. D., GOMEZ-MONTANO, L., SPARKS, A. H. 2016. Chapter 21 - Plant Pathogens as Indicators of Climate Change. *Climate Change (Second edition) Observed Impacts on Planet Earth*, 325-338.

GERRA, D. S., NICKEL, O., DEL PONTE, E. M., SANHUESA, R. M. V., FAJARDO, T. V. M., MARODIN, G. A.B. Development of Glomerella leaf spot is enhanced in virus-infected maxi gala apples. **Journal of Plant Pathology** v. 94, p. 237-241, 2012.

GOES, A., MARTINS, R. D., DOS REIS, R. F. Efeito de fungicidas cúpricos, aplicados isoladamente ou em combinação com mancozeb, na expressão de sintomas de fitotoxicidade e controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 237-240, 2004.

Holb, I. J., Schnabel, G. Efeito de tratamentos fungicidas e práticas de saneamento na incidência de podridão da flor de podridão parda, fitotoxicidade, e rendimento para produção de cereja ácida orgânica. **Plant Disease** v. 89, n.1164–1170, 2005.

Horsfall, J. G. 1956. Fungicidal action and its measurement In *Principales of fungicidal action*; p 15-29, Chronica Botanica, Waltham, MA, USA.

IBGE: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Produção de frutas frescas no Brasil. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 de setembro de 2018.

IPARDES: Base de Dados do Estado. Produção de uva nas regiões geográficas do Paraná. Disponível em: <<http://www.ipardes.pr.gov.br/imp/index.php>>. Acesso em: 30 de setembro de 2018.

KAMSU, N. P.; TCHINDA, S. E.; NGUEMEZI, S. T.; JAZET, D. P. M.; MADJOUKO, M. A.; YOUASSI, O. Y.; SAMEZA, M. L.; TCHOUMBOUGNANG, F.; MENUT, C. Antifungal activities of essential oils of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) on crown rot pathogens of banana. **Indian Phytopathology**, v.72, n.1, p.131–137, 2019.

KUMAR, A., KUDACHIKAR, V. B. Antifungal properties of essential oils against anthracnose disease: a critical appraisal. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.125, p.133–144, 2018.

KRASNIAK, M. prospecção de biofungicidas visando o desenvolvimento de metodologias para o controle biorracional do fitopatógeno do pêssego *Monilinia fructicola* no pré e pós-colheita. 2015. 92p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

JUANG, K., LO, Y., CHEN, T., CHEN, B. Effects of copper on root morphology, cations accumulation, and oxidative stress of grapevine seedlings. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 102, n. 6, p. 873-879, 2019.

LAHLALI, R., PENG, G., MCGREGOR, L., YU, F. Q., HYNES, R. K., HWANG, S. F., MCDONALD, M. R., BOYETCKO, S. M. Evidence that the biofungicide Serenade (*Bacillus subtilis*) suppresses clubroot on canola via antibiosis and induced host resistance, **Biological control**, v. 103, p. 245-254, 2013.

LAMICHHANE, J. R.; EBRAHIM OSDAGHI, E.; BEHLAU, F.; KÖHL, J.; JONES, J. B.; AUBERTOT, J. Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.38, n.28, p. 1-18, 2018.

LA TORRE, A., F. CARADONIA, F., MATERE, A., BATTAGLIA, V. Using plant essential oils to control Fusarium wilt in tomato plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, p. 487-496, 2015.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de alternaria em girassol. **Fitopatologia brasileira**, v.27, n.2, p.193-200, 2002.

LEITE, C. D.; MAIA, A. J.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R.; MACHADO, D.

Extrato de alho no controle *in vitro* e *in vivo* da antracnose da videira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 556-562, 2012.

LENZ, G., COSTA, I. N., BALARDIN, R. S., MARQUES, L. N., ARRUÉL, A., STEFANELO, M. S., ZEMOLIN, C. R. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de *Isariopsis* da videira. **Ciência Rural** v. 39, p. 2301–2308, 2009.

LIANG, C.; JAYAWARDENA, R. S.; ZHANG, W.; WANG, X.; LIU, M.; LIU, L.; ZANG, C.; XU, X.; HYDE, K. D.; YAN, J.; LI, X.; ZHAO, K. Identification and characterization of *Pseudocercospora* species causing grapevine leaf spot in China. **Journal of Phytopathology**, v.164, n.2, p.75–85, 2016.

LOMBARDO, P.; GUIMARAENS, A.; FRANCO, J.; DELLACASSA, E.; FAGGIANI, E. P. Effectiveness of essential oils for postharvest control of *Phyllosticta citricarpa* (citrus black spot) on citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.121, p.1-8, 2016.

LORENZETTI, E. R., POZZA, E. A., SOUZA, P. E., SANTOS, L. A., ALVES, E., SILVA, A. C., GONÇALVES, F., MAIA, M., CARVALHO, R. R. C. Effect of temperature and leaf wetness on *Phoma tarda* and phoma leaf spot in coffee seedlings. **Coffee Science** v. 10, p. 1- 9, 2015.

MAIA, A. J., OLIVEIRA, J. S. B., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., FARIA, C. M. R., BATISTA, A. F. The control of isariopsis leaf spot and downy mildew in grapevine cv. Isabel with the essential oil of lemon grass and the activity of defensive enzymes in response to the essential oil. **Crop Protection**. v. 63, p 57-67, 2014.

MAIA, A. J., SCHWAN-ESTRADA, K. F., FARIA, C. M. R., SANTOS, L. A., OLIVEIRA, J. B. S., SANTOS, R. C. Produção de esporos e efeito da temperatura e luminosidade sobre germinação e infecção de *Pseudocercospora vitis* em videira. **Summa Phytopathologica** v. 41, p. 287-291, 2015.

MADDEN, L. V., HUGHES, G., BOSH, F. V. D. 2007. The study of plant disease epidemics. Minnesota, The American Phytopathological Society. 421p.

MARTINS, V., TEIXEIRA, A., BASSIL, E., BLUMWAL, E., GERÓS, H. Metabolic changes of *Vitis vinifera* berries and leaves exposed to Bordeaux mixture. **Plant**

Physiology and Biochemistry. v.82, p. 270-278, 2014.

MASSOLA Jr, N. S. (2018) Fungos fitopatogenicos. In: Amorim, L. (5ª ed.). **Manual de Fitopatologia princípios e conceitos**, p.p 120., L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamim Filho, L. E. A. Camargo, Minas Gerais, Brazil.

MIRANDA, J. E., BETTINI, P. C., GUSMÃO, L. C. A., OLIVEIRA NETO, B. A. 2007. Uso de produtos adjuvantes em aplicações aéreas e terrestres de inseticidas no controle do bicudo do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 6., Uberlândia. Anais... Campina Grande: Embrapa algodão, 2007.

MORALES, G., MORAGREGA, C., MONTESINOS, E., LLORENTE, I. Environmental and inoculum effects on epidemiology of bacterial spot disease of stone fruits and development of a disease forecasting system. **European Journal of Plant Pathology**, v.152, n.3, p. 635–651, 2018.

MOREIRA, R. R.; NESI, C. N.; MAY DE MIO, L. L. *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* as inhibitors of the *Colletotrichum acutatum* group and potential to control Glomerella leaf spot. **Biological Control**, v.72, p.30-37, 2014.

MOREIRA, R. R., MAY DE MIO, L. L. Potential biological agents isolated from apple fail to control Glomerella leaf spot in the field. **Biological control**, v. 87, p. 56-63, 2015.

MYCOBANK.

<http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&Page=200&ViewMode=Basic>. Acesso: 22 de fevereiro de 2019.

MUSTHAFI, K. S., HMOTEH, J., THAMJARUNGWONG, B., VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. Antifungal potential of eugenyl acetate against clinical isolates of *Candida* species. **Microbial Pathogenesis** v. 99, p. 19–29, 2016.

NIKOLOVA, M. T., YORDANOV, P., SLAVOV, S., BERKOV, S. Antifungal activity of plant extracts against phytopathogenic fungi. **Journal of BioScience and Biotechnology**, v.6, n.2, p.155-161, 2017.

NOGUEIRA JR, A. F., FISCHER, I. H., BRAGANÇA, C. A. D., MASSOLA JR, N. S., AMORIM, L. Identification of *Botryosphaeriaceae* species that cause stilar-end rot of

guavas and characterisation of the disease monocycle. **European Journal of Plant Pathology**, v.144, n.2, p.271–287, 2016.

OJIAMBO, P. S., YUEN, J., VAN DEN BOSCH, F., MADDEN, L. V. Epidemiology: past, present, and future impacts on understanding disease dynamics and improving plant disease management - a summary of focus issue articles. **Phytopathology** v. 107, p. 1092-1094, 2017.

PARK, J., HAN, K., LEE, J., SEO, S., JANG, H., KIM, H. Occurrence tendency and decrease of fruits brix according to increasing grapevine leaf spot disease caused by *Pseudocercospora vitis*. **Research in Plant Disease** v. 10, p. 341-344, 2004.

PARK, J., KYEONG-SUK, H., LEE, J., SEO, S., JANG, H., KIM, H. Pathogenicity and infection mechanism of *Pseudocercospora vitis* causing leaf spot disease on grapevine in Korea. **Research in Plant Disease** v. 12, p. 15-19 2006.

PARK, S., KIM, S., WOO, J., CHOI, S., PARK, S. Control of grapevine leaf spot caused by *Pseudocercospora vitis* with application of bicarbonate. **Fruit Growing Research** v. 30, p. 53-57, 2014.

PEDRO JUNIOR, M. J. P.; PEZZOPANE, J. R. M.; MARTINS, F. P. Uso da precipitação pluvial para previsão de épocas de pulverização visando controle de doenças fúngicas na videira 'Niagara rosada'. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.1, n.1, p.107-111, 1999.

PERUCH, L. A. M., BRUNA, E. D. Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. **Ciência Rural** v. 38, p. 2413–2418, 2008.

R Development Core Team (2015) R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso 10 de maio de 2017

R Development Core Team 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Accessed 29 de novembro de 2018.

ROGOVSKI-CZAJA, E. A., MOREIRA, R. R., NUNES, C. N., DUARTE, H. S. S.,

MAY DE MIO, L. L. 2019. Understanding components of the grapevine leaf spot monocycle and comparing resistance of *Vitis labrusca* cultivars. **Journal of Plant Pathology** <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00281-y>

RYU, Y., BAE, S., YEON, I., KIM, K., PARK, S., PARK, J., PARK, J. Photosynthetic rates of ‘Campbell Early’ organic grape as affected by degree of leaf spot disease caused by *Pseudocercospora vitis*. **Korean Journal Organic Agriculture** v. 24, p. 773-786, 2016.

SAHA, A., MANDAL, P., DASGUPTA, S., SAHA, D. Influence of culture media and environmental factors on mycelial growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. **Journal of Environmental Biology** v. 29, n. 407-410, 2008.

SHANER, G., FINNER, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-maturing resistance in knox wheat. **Phytopathology** v. 67, p. 1051-1056, 1997.

SHASALTANEH, M. D., MOOSAVI-NEJAD, Z., GHARAVI, S., FOOLADI, J. Cane molasses as a source of precursors in the bioproduction of tryptophan by *Bacillus subtilis*. **Iranian Journal of Microbiology** v. 5, p. 285-292, 2013.

SERVILI, A.; FELIZIANI, E.; ROMANAZZI, G. Exposure to volatiles of essential oils alone or under hypobaric treatment to control postharvest gray mold of table grapes **Postharvest Biology and Technology**, v.133, p.36-40, 2017.

SISTERNA, M., RONCO, L. Occurrence of grapevine leaf spot caused by *Pseudocercospora vitis* in Argentina. **Plant Pathology** v. 54, p. 247-247, 2005.

Soares, A. R., Silvia, A. L., Amorim, L. Infecção de goibas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. **Tropical Plant Pathology** v. 33, p. 265-272, 2008.

SÔNIGO, O. R., GARRIDO, L. R., GRIGOLETTI JR, A. Doenças fúngicas. In: Fajardo, TVM. (Ed.) **Uva para processamento: Fitossanidade**. Bento Gonçalves; Brasília: Embrapa Uva e Vinho; Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 11-44.

SU, Y., QI, Y., CAI, L. Induction of sporulation in plant pathogenic fungi. **Mycology** v. 33, p.195-200, 2012.

TAHIR, H. A. S.; SAHI, S. T.; HABIB, A.; HAQ, I. U.; AHMAD, A.; ASHRAF, W. Evaluation of plant extracts as biocontrol agents against *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* the cause of citrus canker. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v.28, n.1, n. 35-43, 2016.

TERAMOTO, A., PARISI, M. C. M., CUNHA, M. G. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassicola*. **Tropical Plant Pathology** v. 38, p. 313-322, 2013.

THERNEAU, T. (2012) A Package for Survival Analysis in S. R package version 2:36-12. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=survival>. Accessed 10 de maio de 2017

TIMMER, L. W., ZITKO, S. E. Evaluation of copper fungicides and rates of metallic copper for control of melanose on grapefruit in Florida. **Plant Disease** v. 80, p. 166–169, 1996.

TRETIN, E., FACCO, D. B., HAMMERSCHMITT, R. K., FERREIRA, P. A. A., MORSCH, L., BELLES, S. W., RICACHENEVSKY, F. K., NICOLOSO, F. T., CERETTA, C. A., TIECHER, T. L., TAROUCO, C. P., BERGHETTI, A. L. P., TOSELLI, M., BRUNETTO, G. Potential of vermicompost and limestone in reducing copper toxicity in young grapevines grown in Cu-contaminated vineyard soil. **Chemosphere** v. 226, p. 421-430, 2019.

VILAPLANA, R., ALBA, P., VALENCIA-CHAMORRO, S. Sodium bicarbonate salts for the control of postharvest black rot disease in yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). **Crop Protection** v.114, p.90-96, 2018.

VANIN, A. B. Produção, propriedades biológicas, antioxidantes e toxicidade do bioaromatizante obtido via esterificação enzimática de óleo essencial do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus*). 2014. 139 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim.

WANG, C., ZHANG, J., CHEN, H., FAN, Y., SHI, Z. Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. **Tropical Plant Pathology** v. 35, p. 137-143, 2010.

WILCOX, F. W.; GUBLER, W. D.; UYEMOTO, J. K. **Compendium of grape diseases, disorders, and pest**. Second edition, 2016. <https://doi.org/10.1094/9780890544815.002>

YÁNEZ-MENDIZÁBAL, V., FALCONÍ, C. E. Efficacy of *Bacillus* spp. to biocontrol of anthracnose and enhance plant growth on Andean lupin seeds by lipopeptide production. **Biological Control** v. 122, p. 67-75, 2018.

ANEXOS

Tabela 1. Erro padrão residual (Erro) e coeficiente de determinação entre valores observados e preditos (R^2) e critério de informação de Akaike (IAC), para os modelos linear, exponencial e logístico ajustados aos dados do progresso temporal da incidência da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos, nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Tratamento	Linear			Monomolecular			Logístico		
	Erro	R^2	AIC	Erro	R^2	AIC	Erro	R^2	AIC
Incidência safra 2016/2017									
Testemunha	0,181	56	-12	0,142	75	-24	0,135	76	-26
Água	0,198	56	-7,3	0,136	80	-27	0,116	85	-36
Acetato de eugenila	0,186	64	-11	0,147	79	-22	0,129	86	-31
Calda Bordalesa	0,148	19	-23	0,093	70	-48	0,148	24	24
PTCV ³	0,269	43	10	0,253	53	7,4	0,248	53	5,3
Serenade ^{®2}	0,233	58	2,1	0,136	86	-27	0,1	92	-45
Serenade ^{®2} + melado de cana 1%	0,211	59	-3,5	0,152	80	-21	0,132	84	-29
Serenade ^{®2} + melado de cana 2%	0,239	55	3,3	0,182	76	-10	0,152	82	-21
Incidência safra 2017/2018									
Testemunha	0,204	45	-4,2	0,129	80	-25	0,127	80	-26
Acetato de eugenila	0,177	59	-11	0,14	76	-21	0,137	76	-23
Acetato de eugenila + KHCO ₃ ¹	0,2	60	-4,5	0,152	79	-17	0,146	80	-20
Calda Bordalesa	0,188	62	-8,1	0,109	88	-33	0,109	88	-34
PTCV ³	0,191	46	-7,5	0,103	86	-35	0,101	85	-37
Serenade ^{®2}	0,198	45	-5,5	0,03	98	-94	0,03	98	-96
Serenade ^{®2} + melado de cana 1%	0,179	45	-10	0,059	94	-62	0,058	94	-68
Serenade ^{®2} + melado de cana 2%	0,231	46	1,7	0,051	97	-69	0,05	97	-71

¹Bicarbonato de potássio. ² Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*. ³ PTCV – produto tecnológico a base de extrato de planta. Assíntota máxima fixada em 100% ou 1.

Tabela 2. Erro padrão residual (Erro) e coeficiente de determinação entre valores observados e preditos (R^2) e critério de informação de Akaike (IAC), para os modelos linear, exponencial e logístico ajustados aos dados do progresso temporal da severidade da mancha das folhas da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com produtos alternativos, nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Tratamento	Linear			Exponencial			Logístico		
	Erro	R^2	AIC	Erro	R^2	AIC	Erro	R^2	AIC
Severidade safra 2016/2017									
Testemunha	4,256	75	164	3,729	81	157	0,034	84	-104
Água	4,374	70	166	3,939	77	190	0,038	78	-97
Acetato de eugenila	0,729	80	66	0,737	80	66	0,007	83	-193
Calda Bordalesa	2,309	60	125	2,596	51	132	0,02	71	-128
PTCV ³	0,523	67	47	0,558	63	51	0,005	69	-210
Serenade ^{®2}	1,173	91	92	1,306	89	98	0,009	94	-173
Serenade ^{®2} + melado cana 1%	0,883	87	76	1,09	81	88	0,008	88	-182
Serenade ^{®2} + melado cana 2%	3,759	48	157	3,999	43	161	0,037	52	-99
Severidade safra 2017/2018									
Testemunha	14,1	74	199	6,84	94	164	0,063	95	-59
Acetato de eugenila	5,386	71	152	3,714	87	134	0,36	88	-86
Acetato de eugenila + KHCO ₃ ¹	6,007	55	158	5,306	66	152	0,525	68	-68
Calda Bordalesa	7,631	66	169	6,581	76	172	0,056	83	-65
PTCV ³	4,898	73	148	3,048	90	125	0,031	90	-93
Serenade ^{®2}	8,994	70	177	5,45	89	153	0,054	90	-66
Serenade ^{®2} + melado cana 1%	10,89	72	186	6,544	90	162	0,064	91	-58
Serenade ^{®2} + melado cana 2%	3,759	48	157	0,037	52	-99	3,999	43	161

¹Bicarbonato de potássio. ² Biofungicida a base da bactéria *Bacillus subtilis*. ³ PTCV – produto tecnológico a base de extrato de planta.

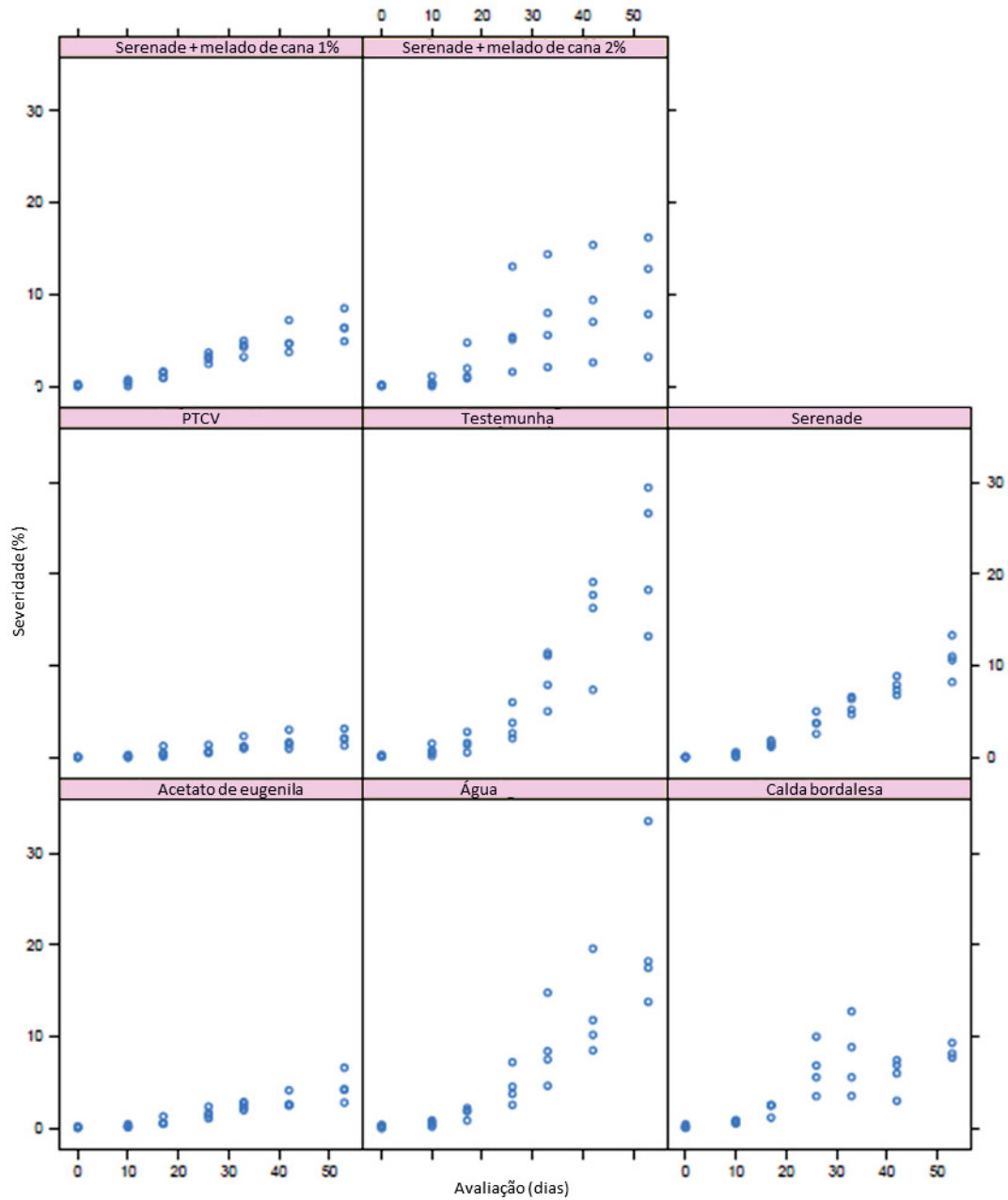


Figura 1. Severidade da mancha da folha da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos e testemunha (sem aplicação), safra 2016/2017, Pinhais, Paraná Brasil. Pontos representam as plantas avaliadas (quatro plantas por tratamento).

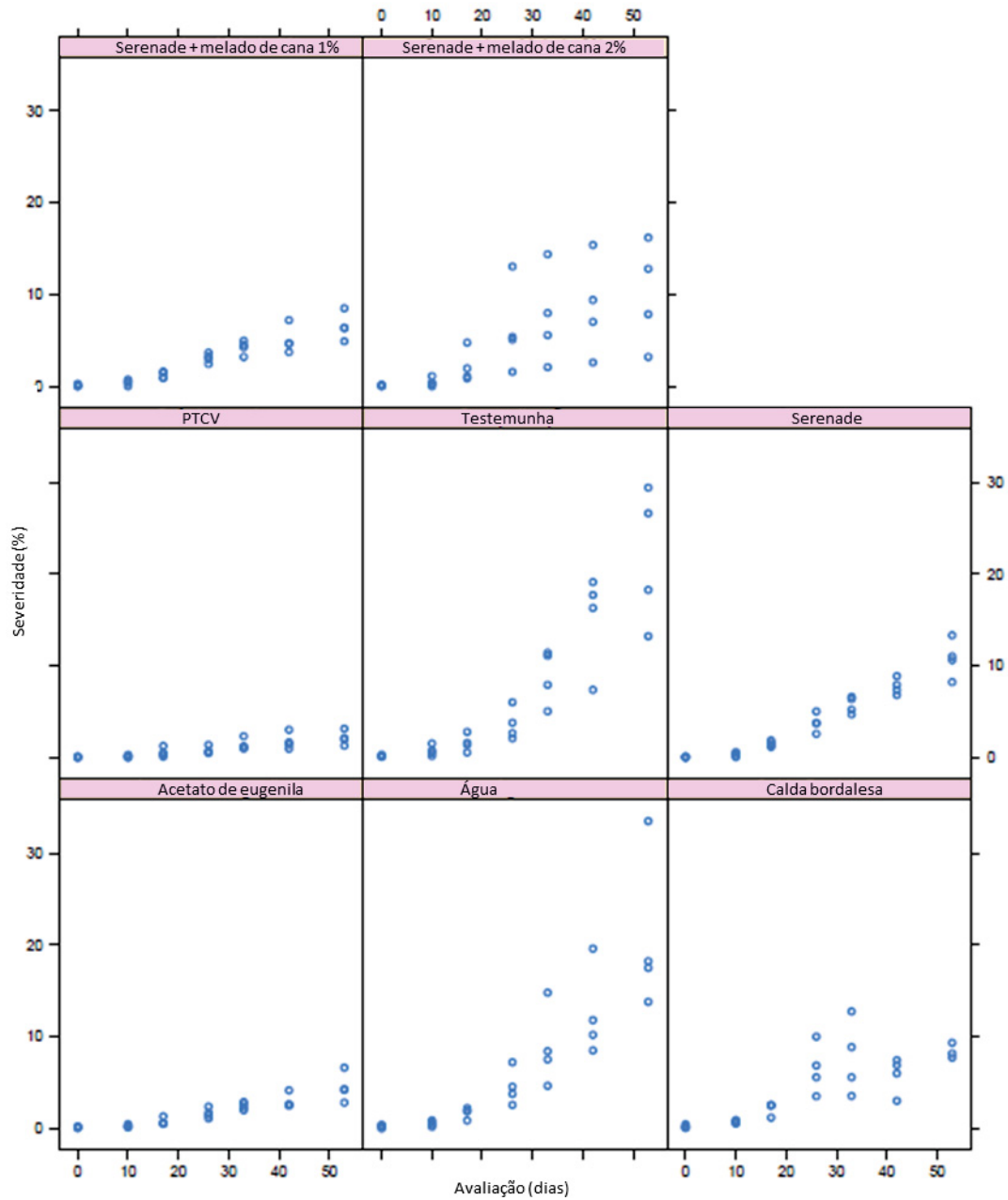


Figura 2. Severidade da mancha da folha da videira, cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), plantas tratadas com os produtos alternativos e testemunha (sem aplicação), safra 2017/2018, Pinhais, Paraná Brasil. Pontos representam as plantas avaliadas (quatro plantas por tratamento).